



Universidade de Aveiro Departamento de Química
2015

**João Manuel Marques
Rodrigues**

**Síntese de sensores, funcionalização de
nanopartículas e fibras óticas para reconhecimento
de aniões**



**João Manuel Marques
Rodrigues**

**Síntese de sensores, funcionalização de
nanopartículas e fibras óticas para reconhecimento
de aniões**

Tese apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química, realizada sob a orientação científica do Doutor João Paulo Costa Tomé e co-orientação do Professor Doutor José Abrunheiro da Silva Cavaleiro, respetivamente, Investigador Principal e Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

Apoio financeiro do POPH-QREN.



Apoio financeiro da FCT e do FSE no âmbito do III Quadro Comunitário de Apoio.



It's a Long Way to the Top

AC/DC

o júri

presidente

Prof. Doutor António Carlos Matias Correia
Professor Catedrático do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Artur Manuel Soares da Silva
Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Teresa Margarida Vasconcelos Dias de Pinho e Melo
Professora Associada com Agregação da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Prof. Doutor Augusto Costa Tomé
Professor Associado com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Susana Paula Graça Costa
Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade do Minho

Doutor João Paulo Costa Tomé
Investigador Principal do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutor Rogério Nunes Nogueira
Investigador Principal do Instituto de Telecomunicações de Aveiro (IT-Aveiro)

Doutora Andreia Sofia Filipe Farinha
Investigadora no Water Desalination and Reuse Center da King Abdullah University of Science and Technology (KAUST), Arábia Saudita

agradecimentos

Ao Doutor João Tomé, orientador deste trabalho de doutoramento, não só pela valiosa orientação e conhecimentos científicos que me transmitiu mas também à amizade e boa disposição que prevaleceu ao longo destes anos.

Ao Professor Doutor José Cavaleiro, co-orientador científico, quero agradecer pelo apoio prestado ao longo da realização deste trabalho.

Ao Professor Doutor Artur Silva pela disponibilidade e ajuda na caracterização estrutural por RMN e pela coordenação científica do plano doutoral.

Ao Professor Augusto Tomé pela pronta ajuda e disponibilidade prestada.

À Andreia Farinha, que em todos os momentos transmitiu valiosos conhecimentos científicos, mesmo nas situações mais difíceis. Agradeço toda a dedicação, disponibilidade e sobretudo amizade durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Doutor Tito Trindade e às Doutoradas Ângela Pereira e Joana Barata do grupo de Química Inorgânica da Universidade de Aveiro agradeço a ajuda na caracterização das nanopartículas e das fibras óticas.

Ao Doutor Rogério Nogueira e à Doutora Nélia Alberto do Instituto de Telecomunicações – Aveiro o meu agradecimento pelo apoio, ajuda e estadia no grupo de investigação, tendo sido possível o estudo com fibras óticas.

Ao Professor Doutor Takashi Morii da Universidade de Quioto, quero expressar o meu reconhecimento pelo apoio e interesse dedicados à realização de parte deste trabalho. Agradeço também a oportunidade que concedeu para realizar um estágio no seu grupo de investigação.

Ao Dr. Hilário Tavares agradeço a disponibilidade que teve na obtenção de espectros de RMN e o tempo e paciência despendido nas titulações. À Doutora Mónica Válega pela amizade e pela pronta disposição em ajudar em tudo.

À FCT, pela bolsa de doutoramento (SFRH/BD/81014/2011), incluindo subsídios atribuídos para a participação em congressos e para o estágio realizado em Quioto.

A todos os colegas de laboratório e funcionários do Departamento de Química da Universidade de Aveiro pela disponibilidade e companheirismo, e que de alguma forma, acompanharam e apoiaram a realização deste trabalho.

À Carla, Clara, Diana, Flávio, Fred, Joana Costa, Leandro, Lucía, Raquel, Sérgio, Sónia e Venkat, agradeço toda ajuda e amizade demonstrada durante estes anos e pelo bom ambiente que se conseguiu colocar no laboratório, que apesar de ser um pouco desorganizado, era o melhor! Agradeço todos os bons momentos que tivemos o prazer de partilhar juntos, dentro e além-fronteiras! 😊

agradecimentos

Aos meus amigos que são como família: Carvalhais, Filipe, Jojo, Joana, Joel, Liliana, Maia, Natália, Pedro, Seabra, Tozé o meu muito obrigado pela imensa amizade que partilhamos e de todos os bons momentos que convivemos, tornando cada dia melhor que o anterior. A todos os outros que não mencionei, mas que sabem que estão sempre presentes, o meu obrigado!

Aos meus pais por estarem sempre comigo e que me apoiaram e estimularam no sentido de levar a cabo a concretização deste trabalho. E de ainda me “aturarem” em casa depois destes anos todos. Ao meu irmão que apesar das nossas teimas, são “brigas de irmãos” que acabam sempre bem! 😊

Por fim, a todas as pessoas que por mim manifestaram carinho e atenção especiais.

palavras-chave

Porfirinas, ftalocianinas, macrociclos tetrapirrólicos, quimiossensores de aniões, sensores de aniões, química supramolecular, reconhecimento molecular, nanopartículas, fibras óticas.

resumo

O trabalho descrito nesta dissertação envolve a síntese e caracterização de novos macrociclos tetrapirrólicos e afins com potencial aplicação como quimiossensores de aniões, tanto em solução como quando suportados em diferentes materiais.

As porfirinas e ftalocianinas ocupam um lugar de destaque nesta dissertação, pelo que no primeiro capítulo, é feita uma revisão bibliográfica acerca das suas metodologias de síntese bem como das suas principais características e aplicações, nomeadamente como quimiossensores de aniões.

No segundo capítulo é discutida a síntese e caracterização dos compostos porfirínicos e ftalocianínicos com grupos amina ou poliamina, posteriormente utilizados como hospedeiros de aniões. Descrevem-se, pormenorizadamente, os métodos de síntese, purificação e caracterização estrutural dos diversos compostos sintetizados.

No terceiro capítulo realizaram-se os estudos de complexação com aniões em solução e determinaram-se as respetivas constantes de afinidade. Os compostos sintetizados apresentam capacidade de interagir com diferentes aniões. As porfirinas testadas apresentam elevadas constantes de afinidade para o anião di-hidrogenofosfato, mesmo em soluções aquosas quando testadas com cristais piezoelétricos. No caso das ftalocianinas verificou-se que estas interagem com vários aniões e apresentam propriedades cromogénicas, podendo mesmo distinguir aniões cianeto em soluções contendo água.

No quarto capítulo estudou-se a imobilização dos quimiossensores, que demonstraram maior eficácia nos estudos de reconhecimento em solução, em diferentes materiais. Primeiro foi estudada a imobilização dos quimiossensores em nanopartículas de sílica (com e sem núcleo magnético) e testada a sua capacidade como sensor de aniões em solução. Numa segunda parte foi estudada a imobilização em fibras óticas. Estas, além das suas excecionais propriedades físico-químicas, têm a vantagem de poderem ser integradas em diferentes estruturas e/ou equipamentos de análise.

Na última parte desta dissertação encontra-se a descrição da síntese e caracterização de novos conjugados porfirina- C_{60} -OligoDNA com potencial aplicação em transferência eletrónica. Foram sintetizados e caracterizados novos compostos porfirina-OligoDNA e C_{60} -OligoDNA. Esta parte do trabalho foi realizada no "Institute of Advanced Energy" na Universidade de Quioto, Japão.

keywords

Porphyrins, phthalocyanines, tetrapyrrolic macrocycles, anion chemosensors, anion sensors, supramolecular chemistry, molecular recognition, nanoparticles, optical fibers.

abstract

The present document reports the synthesis and characterization of new tetrapyrrolic macrocycles and analogues with potential application as chemosensor for anions. The chemosensors were tested in solution and also supported in different materials.

Porphyrins and phthalocyanines have a prominent role in this document. In the first chapter through a review of the literature, is discussed the synthetic methods of porphyrins and phthalocyanines as well as their characteristics and applications, particularly as quimiossensores of anions.

In the second chapter we discuss the synthesis and characterization of porphyrins and phthalocyanines with amino or polyamine groups to be used as anion chemosensors. It is describe, in detail, the methods of synthesis, purification and structural characterization of the several synthesized compounds.

The third chapter describes the interactions studies of the chemosensors with different anions in solution. Were performed several titrations and the respective affinity constants were determined. The synthesized compounds have the ability to interact with different anions. The tested porphyrins have high affinity constant with the dihydrogenophosphate anion, even in aqueous solutions when tested on piezoelectric crystals. In the case of phthalocyanines it was determined that they interact with various anions and have chromogenic properties, displaying sharp color variations, which can even distinguish cyanide anions in solutions containing water.

In the fourth chapter of this thesis we studied the immobilization of the chemosensors, which demonstrated better efficacy in the solutions binging studies, in different materials. First was studied the immobilization of the chemosensors in silica nanoparticles (with and without magnetic core) and tested its ability in solution as anion sensor. In the second part was studied the immobilization on optical fibers. These, in addition to their exceptional physical and chemical properties, have the advantage that can be integrated in different structures and/or analytical equipment.

In the last part of this thesis is described the synthesis and characterization of new porphyrin-[C₆₀]-OligoDNA conjugates with potential application in electronic and energy transfer. They were synthesized and characterized new porphyrin-oligo-DNA and new [C₆₀]-OligoDNA compounds. This part of the work was held at the "Institute of Advanced Energy" at the University of Kyoto, Japan.

Índice

1 Introdução	3
1.1 Aniões no mundo moderno	4
1.2 Quimiossensores de aniões	8
1.3 Porfirinas.....	14
1.3.1 Propriedades gerais das porfirinas.....	15
1.3.2 Métodos de síntese de macrociclos tetrapirrólicos.....	17
1.3.2.1 Síntese de porfirinas <i>meso</i> -substituídas simétricas.....	18
1.3.2.2 Síntese de porfirinas <i>meso</i> -substituídas não simétricas.....	22
1.3.2.3 Síntese de porfirinas por reação de dipirrometanos.....	23
1.3.3 Aplicações de macrociclos porfirínicos	24
1.3.4 Porphirinas como quimiossensores de aniões.....	25
1.4 Ftalocianinas	31
1.4.1 Propriedades principais das ftalocianinas	32
1.4.2 Síntese de ftalocianinas	34
1.4.3 Ftalocianinas como quimiossensores de aniões	38
2 Síntese de quimiossensores	45
2.1 Síntese de quimiossensores porfirínicos	45
2.1.1 Síntese da 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (TPPF₂₀).....	45
2.1.2 Síntese de derivados porfirínicos por reação da TPPF₂₀ com diferentes diaminas	47
2.1.3 Síntese de derivados porfirínicos dissustituídos.....	56
2.2. Síntese de quimiossensores ftalocianínicos	64
2.2.1 Síntese de ftalocianinas simétricas	64
2.2.2 Síntese de ftalocianinas assimétricas.....	72
2.3. Conclusões	76
3 Estudo do comportamento dos compostos sintetizados com aniões.....	81
3.1 Modelo para o estudo das constantes de afinidade por UV-Vis	81
3.1.1 Modelo de equilíbrio 1:1	83
3.1.2 Modelo de equilíbrio 1:2	84
3.2 Testes de complexação de aniões com quimiossensores porfirínicos	85
3.2.1 Testes de complexação de aniões com porfirinas na forma neutra.....	86
3.2.2 Testes de complexação de aniões com porfirinas na forma protonada	93
3.2.3 Estudo de complexação de aniões com porfirinas em soluções aquosas	97
3.2.4. Conclusões	99
3.3 Testes de complexação de aniões com quimiossensores ftalocianínicos.....	100
3.3.1 Estudos de absorção com os quimiossensores para vários aniões	100
3.3.2 Titulação por RMN	105
3.3.3 Resposta cromogénica em meios aquosos	106
3.3.4 Mudança de cor em meio sólido	107

3.3.5 Estudos de reversibilidade e de reuso	108
3.3.6 Conclusões	109
4 Sensores suportados em (nano)materiais	113
4.1 Nanopartículas como sensores de aniões	113
4.2 Nanopartículas de sílica usadas como sensores de aniões	116
4.3 Nanopartículas de sílica magnéticas usadas como sensores de aniões	121
4.3.1 Síntese de híbridos NPSM-porfirinas.....	121
4.3.2 Híbridos NPSM-porfirinas usados como sensores de aniões.....	125
4.3.3 Síntese de híbridos NPSM-ftalocianinas	128
4.3.4 Híbridos NPSM-ftalocianina usados como sensores de aniões	130
4.3.5 Conclusões	135
4.4 Fibras óticas como sensores.....	136
4.4.1 Funcionalização de fibras óticas	138
4.4.2 Fibras óticas funcionalizadas como sensor de aniões	149
4.4.3 Conclusões	156
5 Novos derivados porfirina-C₆₀-origami DNA para dispositivos fotônicos	161
5.1 Origamis de DNA	161
5.2 Nanotecnologia de DNA para transferência de energia.....	165
5.3 Díades porfirina-C ₆₀	166
5.4 Síntese dos precursores porfirinas e C ₆₀	169
5.5 Conjugados oligonucleotídeos de porfirina e C ₆₀	175
5.6 Novos derivados Porfirina-C ₆₀ -DNA origami	185
5.7 Conclusões	188
6 Parte Experimental.....	193
6.1 Reagentes, solventes e equipamento.....	193
6.2 Síntese dos quimiossensores porfirínicos	194
6.3 Síntese de quimiossensores ftalocianínicos	200
6.4 Quimiossensores suportados em materiais	204
6.5 Síntese de precursores para o DNA origami.....	207
Bibliografia Geral	213

Abreviaturas

AFM	Microscopia de força atômica, do inglês “ <i>atomic force microscopy</i> ”
APTES	3-Aminopropiltrietoxissilano
CPs	Calix[4]pirróis
d	Dupleto
DBU	1,8-Diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno
dd	Duplo dupleto
DDQ	2,3-Diciano-5,6-diclorobenzoquinona
DMAE	<i>N,N</i> -dimetilaminoetanol
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	Sulfóxido dimetílico
DNA	Ácido desoxirribonucleico, do inglês “ <i>deoxyribonucleic acid</i> ”
DPM	Dipirrometano
EDS	Espectroscopia dispersiva de raios-X, do inglês “ <i>electron dispersive spectroscopy</i> ”
equiv.	Equivalentes
FBG	Rede de Bragg gravada em fibra ótica, do inglês “ <i>fiber Bragg gratings</i> ”
FTIR-ATR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada, do inglês “ <i>attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy</i> ”
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês “ <i>high performance liquid chromatography</i> ”
HRMS-ESI	Espectrometria de massa de alta resolução com ionização por electrospray, do inglês “ <i>high resolution mass spectrometry with electrospray ionization</i> ”
ITC	Calorimetria isotérmica de titulação, do inglês “ <i>Isothermal titration calorimetry</i> ”
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês “ <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> ”
<i>J</i>	Constante de acoplamento (Hz)
<i>K</i>	Constante de afinidade
LD	Limites de detecção
m	Multiplete
<i>m/z</i>	Razão massa/carga
MPor	Metaloporfirina
MPTS	3-Mercaptopropiltrietoxissilano
MS	Espectrometria de massa
MS-MALDI	Espectroscopia de massa de ionização por dessorção por laser assistida por matriz
MS-ESI	Espectroscopia de massa com ionização por electrospray

MW	Radiação micro-ondas
NMP	<i>N</i> -Metil-2-pirrolidona
NPS	Nanopartículas de sílica
NPSM	Nanopartículas de sílica magnéticas
OligoDNA	Oligonucleotídeos
ONA	Analizador ótico de redes, do inglês “ <i>optical network analyser</i> ”
Pcs	Ftalocianinas
PDT	Terapia fotodinâmica, do inglês “ <i>photodynamic therapy</i> ”
p.f.	Ponto de fusão
Por	Porfirinas
ppm	Partes por milhão
RF	Radiofrequência
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMN de ¹H	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton
RMN de ¹³C	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ¹⁹F	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de flúor-19
RNA	Ácido ribonucleico, do inglês “ <i>ribonucleic acid</i> ”
s	Singuleto
sl	Singuleto largo
SEM	Microscopia eletrônica de varrimento, do inglês “ <i>scanning electron microscopy</i> ”
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
TBA	Tetrabutilamônio
TEA	Trietilamina
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão, do inglês “ <i>transmission electron microscopy</i> ”
TFA	Ácido trifluoroacético, do inglês “ <i>trifluoroacetic acid</i> ”
TFBG	Rede de Bragg inclinada gravada em fibra ótica, do inglês “ <i>tilted fiber Bragg grating</i> ”
TLC	Cromatografia em camada fina, do inglês “ <i>thin-layer chromatography</i> ”
TPP	<i>meso</i> -Tetrafenilporfirina
TPPF₂₀	5,10,15,20–Tetraquis(pentafluorofenil)porfirina
TMS	Tetrametilsilano
XPS	Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X, do inglês “ <i>X-ray photoelectron spectroscopy</i> ”
δ	Desvio químico em relação ao tetrametilsilano (em ppm)
ΔH	Variação da entalpia
λ	Comprimento de onda

CAPÍTULO I

Introdução

1 Introdução

A química supramolecular é uma das áreas da química que nas últimas décadas tem tido um crescimento exponencial, como indicado pelo elevado número de artigos científicos, artigos de revisão e capítulos de livros publicados.¹⁻¹¹ Esta área de estudo surgiu na década de 60 com o trabalho de Pedersen e Cram com éteres do tipo coroa e com o de Lehn que trabalhou com os compostos criptandos (Figura 1).³ Estes três cientistas foram premiados em 1987 com o Prémio Nobel da Química pelo desenvolvimento da química supramolecular como um novo campo da química.

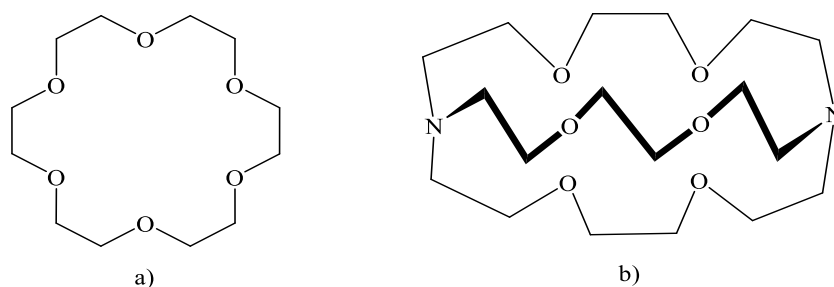


Figura 1 – Exemplo de: a) um éter coroa (18-coroa-6); b) um criptando.

A química supramolecular é um dos ramos da química que está focada na “química além das moléculas”, estudando sistemas químicos formados por várias subunidades ou por diferentes compostos moleculares. Podemos descrever este ramo da química como a química das interações entre moléculas, ou seja, que pretende estudar como é que estas moléculas se podem reconhecer umas às outras, a sua organização e o seu funcionamento à escala molecular. Assim, a química supramolecular está relacionada com entidades químicas de complexidade mais elevada do que a das próprias moléculas, onde duas ou mais espécies químicas são mantidas unidas por forças intermoleculares. Fornece-nos uma abordagem para sistemas à nanoescala, com aplicações que vão desde a química dos materiais à biologia.⁸

As forças responsáveis pela organização espacial das moléculas podem variar de interações fracas (como forças intermoleculares, eletrostáticas ou ligações por pontes de hidrogénio) a interações fortes (ligações covalentes).¹² Considerando que a química molecular centra o seu estudo nas ligações covalentes, pois são estas as interações necessárias para manter e organizar os átomos em moléculas, a química supramolecular estuda as interações fracas e interações não covalentes reversíveis entre as moléculas.

Estas forças incluem ligações de hidrogénio, forças hidrofóbicas, forças de Van der Waals, interações π - π , interações com metais e efeitos eletrostáticos. Conceitos importantes têm sido demonstrados pela química supramolecular como o reconhecimento molecular, organização supramolecular (do inglês *self-assembly*) e sistemas hospedeiro-hóspede.^{8,12}

O estudo das interações não covalentes é crucial para a compreensão de muitos processos físicos, químicos e biológicos, permitindo deste modo compreender estruturas cristalinas simples a sistemas biológicos bastantes complexos. Aliás, os sistemas biológicos são muitas vezes a inspiração para a investigação da química supramolecular. As interações supramoleculares são o fundamento de processos muito complexos de reconhecimento, reação, transporte, regulação, que ocorrem na biologia, tais como a ligação de um substrato a uma proteína recetora, reações enzimáticas, organização de multiproteínas, reconhecimento celular, e assim por diante. A química do hospedeiro-hóspede envolve a ideia de reconhecimento molecular e interações através de ligações não-covalentes. Assim a ligação mais simples que pode ocorrer na química supramolecular envolve a interação entre duas moléculas, das quais uma atuará como hospedeiro e uma outra como hóspede. Nestes sistemas hospedeiro-hóspede, o hospedeiro é normalmente uma macromolécula que possui uma cavidade ou grupos funcionais que possam “acomodar” o hóspede. O hospedeiro por se tratar de uma molécula sensível é denominado por quimiossensor.

As ligações não covalentes estabelecidas pelos quimiossensores e as moléculas alvo (hóspede) são essenciais para a manutenção das estruturas tridimensionais de pequenas e grandes moléculas, tais como proteínas e ADN, e estão envolvidos em inúmeros processos biológicos. As moléculas mais usadas em sistemas hospedeiro-hóspede são nomeadamente: ciclodextrinas,¹³⁻²³ calixarenos,²⁴⁻³⁰ cucurbiturilos,^{16,21,22,31-38} porfirinas,^{23,39-48} ftalocianinas,^{39,44,48,49} coroas metálicas,⁵⁰ éteres coroa,^{51,52} e zeólitos.^{53,54}

1.1 Aniões no mundo moderno

As espécies aniónicas estão presentes em todo o mundo, por exemplo, os iões cloreto estão presentes em todas as águas naturais, em concentrações variáveis, sendo que é nos oceanos onde se verifica a sua maior incidência. Os aniões nitrato e sulfato estão presentes em chuvas ácidas e estão associados à poluição que o homem produz na

superfície terrestre, nomeadamente, a deposição de substâncias acidificantes nos solos e nas águas, que afetam gravemente um elevado número de espécies vegetais, animais, monumentos e estruturas metálicas.⁵⁵ Espécies aniónicas antropogénicas, fosfatos e nitratos (provenientes da agricultura e outras atividades humanas) representam um problema grave de poluição. Estas espécies são muitas vezes responsáveis pela contaminação e eutrofização dos cursos de água.⁵⁶⁻⁵⁸

Os aniões são também fundamentais para a preservação da vida como a conhecemos. De facto, o transporte, reconhecimento ou a transformação de espécies aniónicas estão envolvidos em praticamente todos os processos bioquímicos.^{56,57,59-62} Na natureza espécies aniónicas estão envolvidas em diversos tipos de interações moleculares, desde interações com sais inorgânicos simples até interações com moléculas orgânicas complexas, tais como DNA e RNA. Uma pequena alteração nestes processos pode conduzir a uma enorme variedade de doenças como é o caso da osteoporose, fibrose cística e doença de Alzheimer.^{63,64}

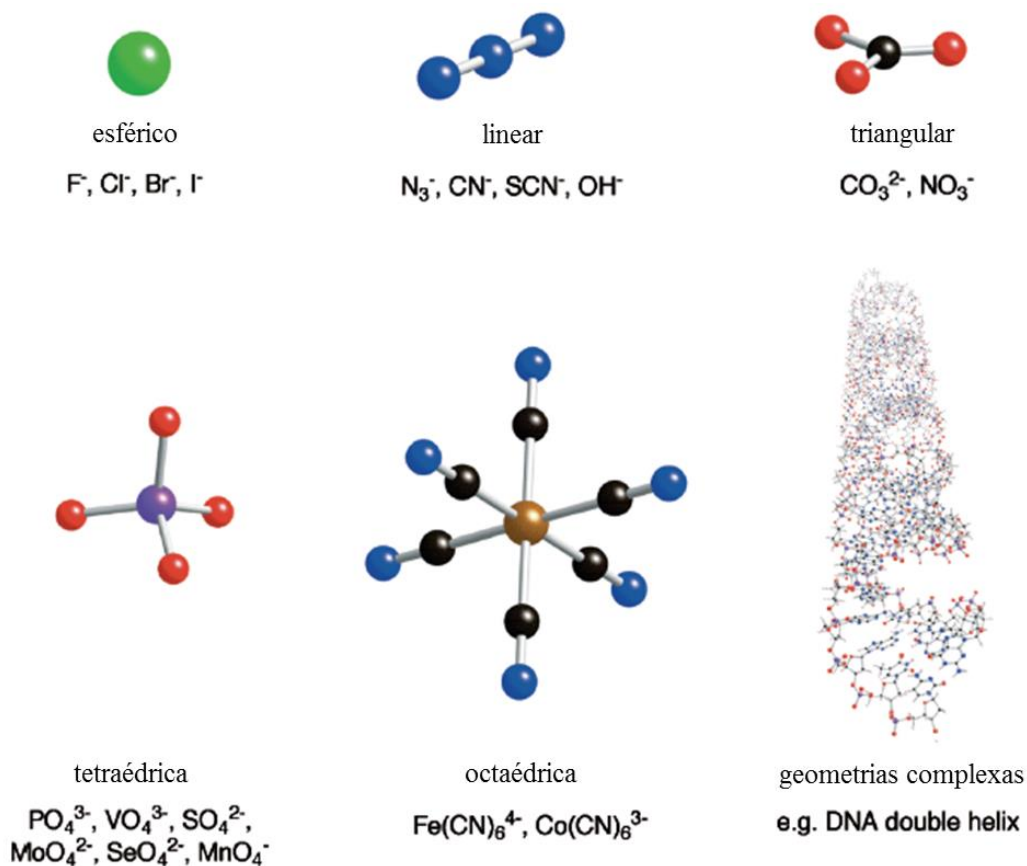
A área de reconhecimento de aniões está em constante expansão.⁶⁵ Apesar de existirem inúmeros quimiossensores para cátions, poucas são as moléculas capazes de reconhecer aniões. Por isso, poliaminas protonadas (e outras espécies carregadas) e hospedeiros incorporando grupos funcionais tais como: indole, pirrol, amida, sulfonamida, e ureia têm sido bem-sucedidos em termos de reconhecimento eficiente de aniões via interações de Van der Waals e pontes de hidrogénio.^{62,66-71} Devido às propriedades de reconhecimento de diferente tipo de moléculas, a complexação com aniões tornou-se uma área de investigação bastante atraente.⁷²⁻⁷⁴

O desenho e síntese de novos quimiossensores de aniões é particularmente difícil, quando comparado com o desenvolvimento de moléculas sensíveis para cátions. O raio iónico dos aniões é maior do que o dos seus cátions isoeletrónicos equivalentes (Tabela 1) e, por essa razão, têm uma carga inferior.¹² Este facto é uma dificuldade adicional ao desenvolvimento de novos quimiossensores de aniões, devido às interações eletrostáticas menos eficazes com aniões. Acrescentando a estes factos, os aniões são sensíveis ao pH, o que obriga os hospedeiros a funcionarem dentro de um intervalo de pH, onde existe maioritariamente a espécie do anião que se pretende estudar.

Tabela 1 – Comparação entre os raios de cátions e aniões isoeletrônicos.¹²

Catão	r [Å]	Anião	r [Å]
Na ⁺	1,16	F ⁻	1,19
K ⁺	1,52	Cl ⁻	1,67
Rb ⁺	1,66	Br ⁻	1,82
Cs ⁺	1,81	I ⁻	2,06

As espécies aniônicas, ao contrário das catiónicas, possuem uma ampla variedade de geometrias e sem formas uniformes (Figura 2). Os halogénios, tais como brometo (Br⁻), cloreto (Cl⁻), fluoreto (F⁻) e o iodeto (I⁻) possuem uma forma esférica enquanto aniões como hidróxido (OH⁻) e cianeto (CN⁻) possuem uma forma linear. O anião carbonato (CO₃²⁻) e o nitrato (NO₃²⁻) são iões planares triagonal por natureza enquanto o fosfato (PO₄³⁻) e o sulfato (SO₄²⁻) possuem uma geometria tetraédrica. Consequentemente, uma maior complexidade existe para projetar hospedeiros seletivos para uma determinada espécie aniônica, ao contrário do que sucede para a maioria dos cátions simples.

**Figura 2** – Diferentes geometrias dos aniões.¹²

Os solventes usados também desempenham um papel crucial na seletividade das espécies aniônicas. Assim, um potencial hospedeiro de aniões deve competir com sucesso com o meio em que o processo de interação ocorre. Por exemplo, um hospedeiro neutro que interage com aniões apenas através de interações ião-dipolo só pode formar interações hospedeiro-hóspede em solventes orgânicos apróticos. Macrociclos com vários grupos amina protonados são capazes de interagir com aniões mesmo em água. É claro que o hospedeiro de aniões não deve apenas competir com o solvente do meio, mas também com o contra-catião que é necessariamente emparelhado com o anião em estudo. Muitas vezes esses efeitos são ignorados, o que pode levar a erros sistemáticos significativos em análises quantitativas.

O desenvolvimento de hospedeiros seletivos para aniões requer três pontos essenciais: a natureza do meio, a geometria do anião e a sua própria basicidade. Uma maneira útil de classificar hospedeiros de aniões é dividi-los pelos tipos de interação não-covalente usados para a formação do complexo hospedeiro-hóspede. Estes incluem a coordenação com um ião metálico, pontes de hidrogénio, interações eletrostáticas, complexação ácido-base de Lewis, forças de Van der Waals e combinações de todas essas interações em conjunto (Figura 3). Como dito anteriormente, é possível os hospedeiros de aniões conterem mais do que um grupo funcional capaz de interagir com aniões através de uma combinação de diferentes interações/forças. Hospedeiros que são capazes de interagirem com aniões através de pontes de hidrogénio contêm muitas vezes na sua estrutura aminas simples e secundárias, ureia, tioureia, pirróis, fenóis, imidazóis ou triazóis.⁷⁵

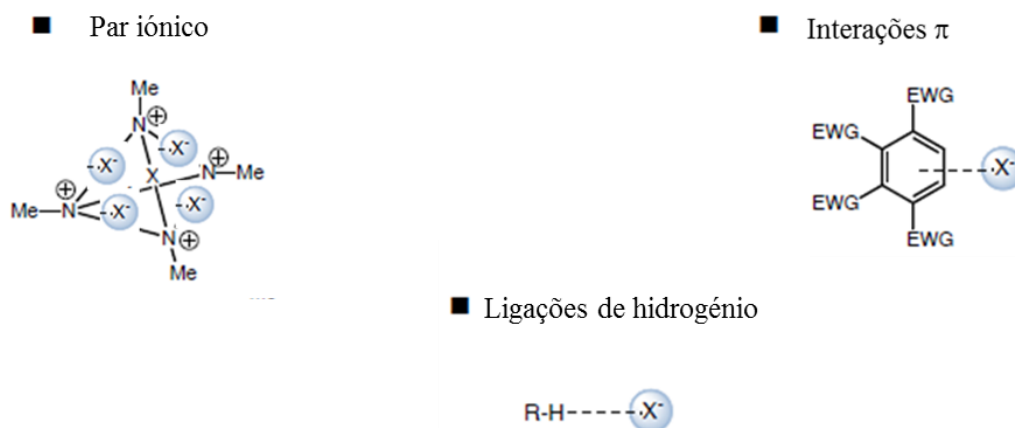


Figura 3 – Exemplos de interações não covalentes.¹²

O processo de detecção de aniões é baseado nas alterações que ocorrem nas propriedades físico-químicas do hospedeiro ou nas do complexo hóspede:hospedeiro que se forma. Alterações ao nível de absorção, emissão, tempo de vida, fluorescência, entre outras, permitem não só detetar a presença do anião mas também avaliar o equilíbrio que ocorre e consequentemente determinar as constantes de afinidade e quantificar posteriormente a concentração do anião.^{75,76} Outro método para detetar a presença de aniões é incorporar um quimiossensor num eléctrodo de um cristal piezoelétrico, onde este irá responder seletivamente a certos analitos.^{77,78}

Dos vários campos mais estudados na química supramolecular, os estudos relacionados com os dispositivos moleculares e supramoleculares merecem ser destacados. Os dispositivos moleculares são constituídos por moléculas ligadas covalentemente, enquanto os dispositivos supramoleculares são desenhados para serem utilizados por interações intermoleculares na incorporação dos seus constituintes. Dispositivos que apresentam a propriedade de interagir com a matéria ou com energia, transmitindo como resposta um sinal que pode ser medido, são denominados de sensores.⁷⁹ Czarnik definiu um sensor químico como sendo um dispositivo, microscópico ou macroscópico, que interage reversivelmente com um analito químico, tendo como resposta um sinal que pode ser medido.⁷⁹ Assim, podemos definir quimiossensor como sendo uma molécula ou um complexo supramolecular com capacidade para detetar a presença de matéria ou de energia.⁷⁹

1.2 Quimiossensores de aniões

O primeiro estudo de encapsulamento de um ião por um ligando orgânico foi reportado por Pedersen em 1967.⁸⁰ Desenvolveu um método simples de sintetizar compostos éteres coroa quando tentava sintetizar um hospedeiro para complexar catiões. A estratégia de Pedersen envolvia a ligação de dois grupos catecolatos através de um hidroxilo em cada molécula. Esta ligação de dois grupos catecolatos origina um ligando polidentado que pode envolver parcialmente o catião. Na Figura 4 está representado um éter coroa, o 18-coroa-6, coordenado com o catião potássio.

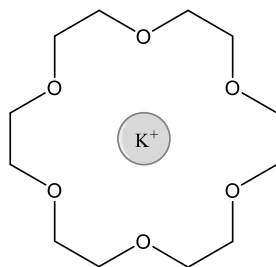


Figura 4 – Exemplo de um éter coroa complexado com um cátion.

Por outro lado, o primeiro exemplo de encapsulamento de um anião por um ligando orgânico envolveu uma molécula contendo dois grupos amônio ligados a três cadeias alquila (Figura 5).⁸¹ Os autores notaram que o próton presente no grupo amônio pode ter duas posições: para fora ou para dentro da cavidade do receptor. Estas diferentes conformações poderiam ser observadas por espectroscopia de RMN de 1H . Dos vários compostos estudados, com ligantes de diferentes dimensões, variando o tamanho da cadeia de 7 a 10 grupos metileno (**1**), o composto **2** foi a que possui a maior afinidade para o anião cloreto.⁸¹



Figura 5 – Encapsulamento do anião cloreto envolvendo dois centros amônio.

Depois do trabalho de Simmons e Park, o trabalho seguinte, envolvendo encapsulamento de espécies aniônicas, foi desenvolvido por Lehn e colaboradores, no qual descrevem as propriedades de ligação entre aniões e diferentes macrociclos receptores à base de amônio. Este estudo demonstrou como otimizar o ajuste de um anião para uma determinada cavidade, que poderia estar protonada e que levaria a haver uma forte ligação entre o hóspede e o anião. Por exemplo, a interação entre os hóspedes **3-5** e aniões halogêneos é cada vez mais forte mediante o aumento do tamanho do anião (Figura 6).^{82,83}

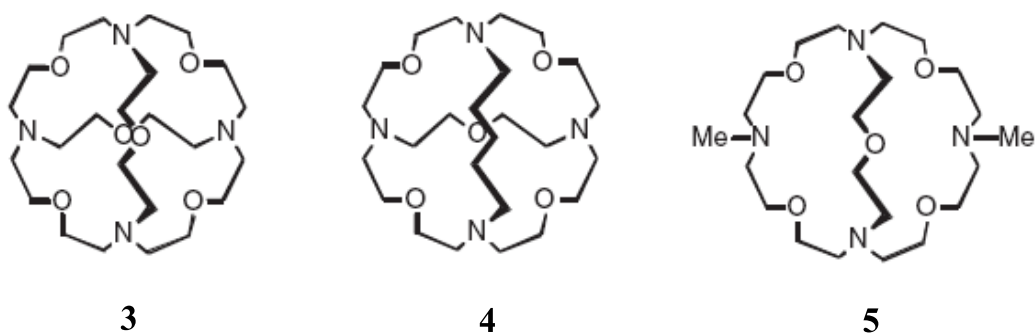


Figura 6 – Três criptandos diferentes contendo 4 grupos amina.

Os quimiossensores **3-5** depois de serem estudados na sua forma neutra foram também avaliados na sua correspondente forma protonada. Foi determinado que os quimiossensores interagem seletivamente com aniões cloreto com uma constante de afinidade elevada, quando comparada com outros aniões halogéneo. Por exemplo, o anião iodeto era muito grande para caber dentro da cavidade e, conseqüentemente, a força de interação entre o quimiossensor e o anião era significativamente mais fraca. O composto **5** demonstrou uma menor afinidade para aniões do que os restantes quimiossensores. Weiss e colaboradores conseguiram obter um cristal do complexo entre o quimiossensor **4** e o ião cloreto, confirmando que o anião cloreto estabelece a interação com o quimiossensor **4** no centro da cavidade (Figura 7).⁸⁴

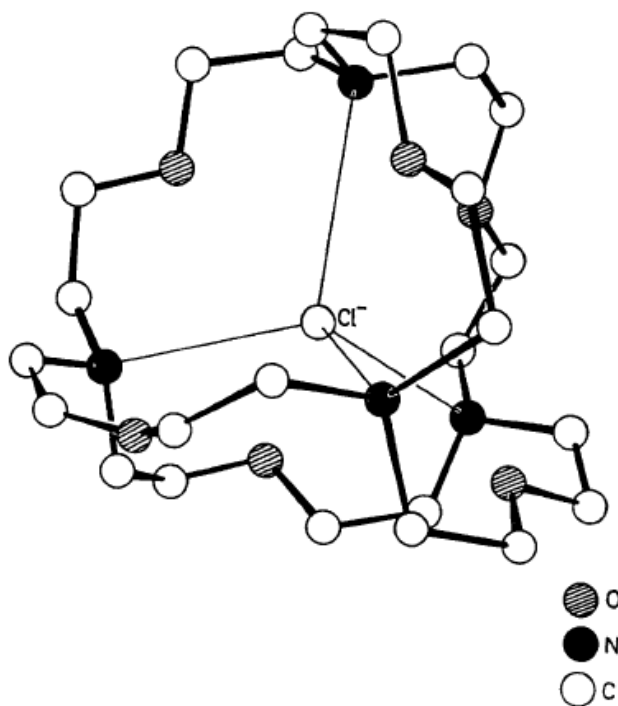


Figura 7 – Estrutura do cristal do complexo **4**-cloreto.⁸⁴

De entre várias famílias de quimiossensores, existem os quimiossensores óticos. Estes podem ser desenhados através da combinação de uma molécula com sítios de ligação de aniões com um grupo cromóforo e/ou fluoróforo, podendo este ser um composto orgânico ou um complexo organometálico. Assim a interação do hospedeiro com o anião provoca uma variação de cor ou de fluorescência, podendo ser detetável com auxílio de equipamento espectroscópico ou mesmo a “olho nu” (Figura 8).⁸⁵



Figura 8 – Princípio básico de um quimiossensor cromogénico de aniões.⁸⁵

Este tipo de quimiossensores de aniões pode ainda permitir determinar a natureza do anião, pois as diferentes basicidades e diferentes afinidades dos aniões irão resultar em diferentes alterações de cor da solução do quimiossensor/complexo.

Os calix[4]pirróis (CPs) foram os primeiros compostos tetrapirrólicos a serem estudados como quimiossensores de aniões. Os CPs são macrociclos incolores, não aromáticos, que necessitam de possuir uma ligação covalente a um grupo cromóforo ou fluoróforo para terem a capacidade de dar uma resposta cromogénica, quando na presença de aniões. Também estes macrociclos interagem com os aniões através da sua cavidade interna.

Em 1996, Gale e Sessler descreveram pela primeira vez a interação entre CPs e diferentes aniões. Neste trabalho estudaram as interações entre CPs e vários aniões, tais como: fluoreto, cloreto e di-hidrogenofosfato.⁸⁶ Com o intuito de confirmar os CPs como sensores colorimétricos de aniões, os autores descreveram pela primeira vez a utilização de um anião com cor de modo a verificar se a complexação do anião com os CPs

causavam perturbações eletrônicas suficientes nesse anião para que ocorresse alteração de cor. Os aniões escolhidos para efetuar esse estudo foram o 4-nitrofenolato e o fluoreto (Figura 9).⁸⁷

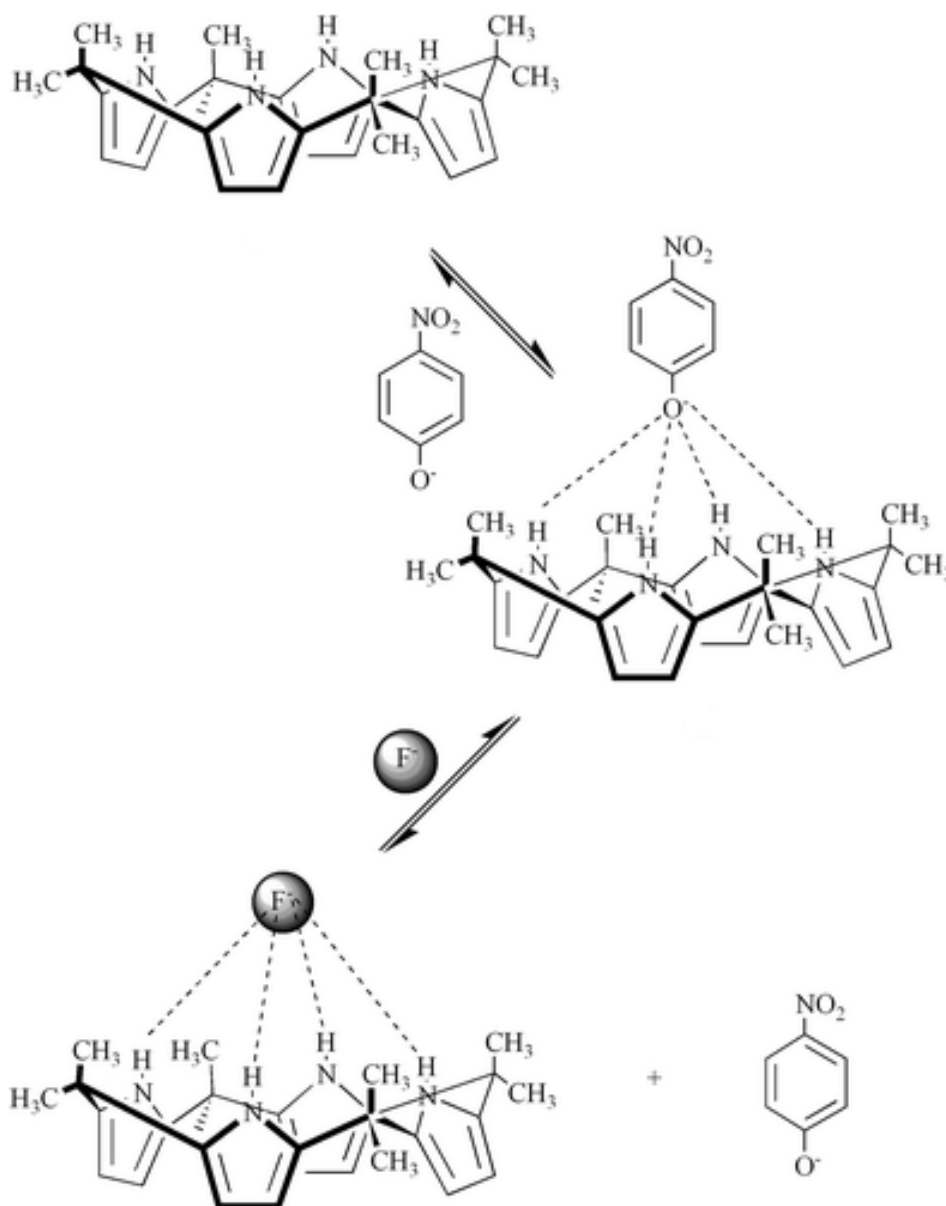


Figura 9 – Interação entre o CP e o anião fluoreto na presença de 4-nitrofenolato.⁸⁵

As constantes de afinidade com os diferentes aniões foram determinadas por titulação em RMN de ¹H. A interação entre o anião fluoreto e os CPs foi a que demonstrou ter valores mais elevados. Os autores também descreveram as semelhanças de conformação entre os CPs e os calix[4]areno por análise de raios-X de cristal único. A

conformação do macrociclo muda dramaticamente quando se forma o complexo com o anião. O CP livre adota uma conformação alternada 1-3 em que os anéis adjacentes estão orientadas em sentidos opostos. No entanto, a estrutura cristalina do complexo formado pelo CP e o anião cloreto revela que o macrociclo adota uma conformação em forma de cone, onde os quatro grupos NH pirrólicos formam ligações de hidrogénio com o ião cloreto (Figura 10).

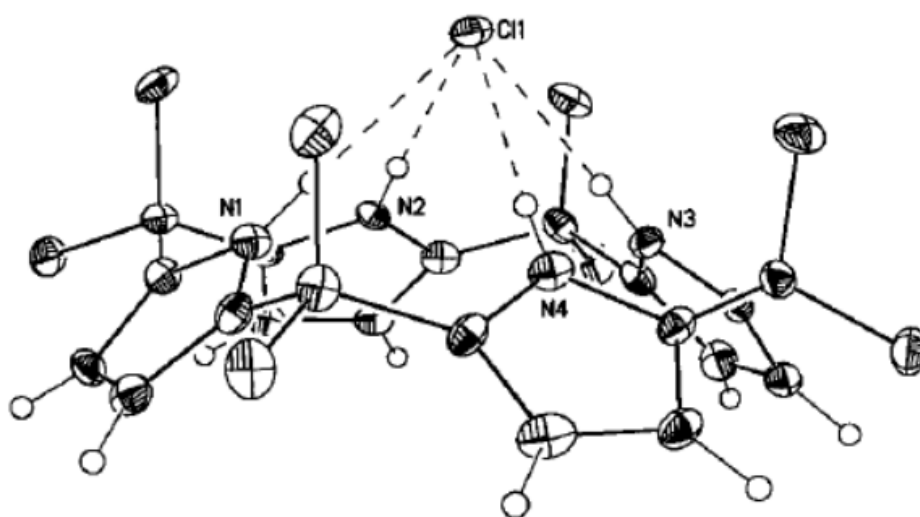


Figura 10 – Estrutura do complexo formado entre o CP e o anião cloreto.⁸⁶

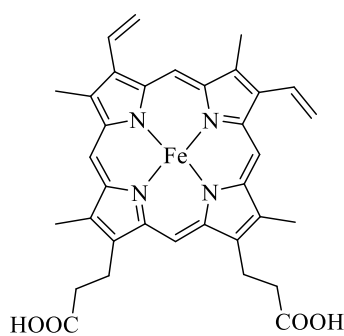
Atualmente já existem inúmeras moléculas sintetizadas que atuam como hospedeiros de aniões. Entre as várias famílias de quimiossensores de aniões existentes encontramos os macrociclos pirrólicos tais como calix[4]pirróis,⁸⁸⁻⁹¹ porfirinas,^{78,92-94} ftalocianinas⁹⁵ e derivados porfirínicos expandidos.^{56,96,97}

Porfirinas (Por) e ftalocianinas (Pcs) são macrociclos tetrapirrólicos aromáticos, que possuem uma cor púrpura natural e uma cor azul ou verde, respetivamente. Outra diferença significativa entre estes dois macrociclos e os CPs é o facto de que as Por e as Pcs serem incapazes de interagir com aniões no centro do macrociclo,^{98,99} pois a interação dos aniões com os NH internos iria perturbar a planaridade desses macrociclos. Assim, estes macrociclos só interagem com aniões através de substituintes periféricos, capazes de interagir com aniões, ou através da complexação com metais capazes de coordenar axialmente espécies de carácter negativo. Macrociclos tetrapirrólicos expandidos, como safirinas, apresentam cores e respostas distintas de fluorescência, mediante a adição de aniões.¹⁰⁰

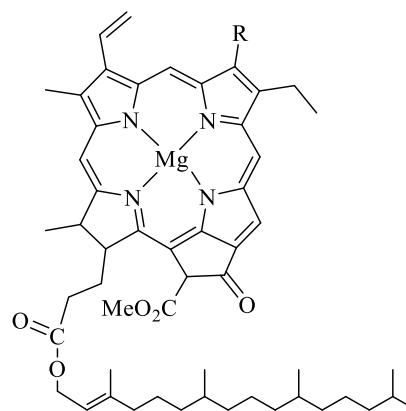
1.3 Porfirinas

Os macrociclos tetrapirrólicos naturais são uma classe de compostos que, com pequenas modificações estruturais, podem desempenhar múltiplas funções. Nesta classe de compostos encontram-se as porfirinas e análogos que estão envolvidos em vários processos biológicos como os da respiração, transporte de eletrões, fotossíntese e diversas ações enzimáticas.¹⁰¹ De facto, na forma de complexos metálicos, fazem parte de estruturas como a da hemoglobina, mioglobina, citocromos, clorofilas, vitamina B₁₂ entre outras.

Por exemplo, o grupo heme (Figura 11.1) é a metaloporfirina (MPor) que se encontra presente em várias hemoproteínas, sendo a presença do ião ferro fundamental para o transporte e armazenamento do oxigénio e dióxido de carbono, bem como na participação em reações de oxidação-redução. Por sua vez as clorofilas (Figura 11.2), têm um papel fundamental na Natureza, pois são responsáveis pela captação de energia solar e pela sua transformação em energia química. No caso das clorofilas, o ião metálico coordenado é o magnésio (Figura 11).



11.1 Heme



11.2 Clorofila a, R = CH₃
Clorofila b, R = CHO

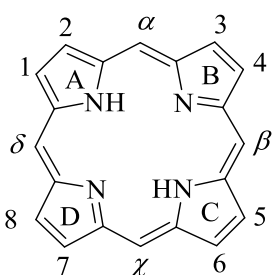
Figura 11 – Macrociclos tetrapirrólicos naturais envolvidos em processos biológicos.

Devido às suas características específicas, as porfirinas e análogos têm vindo a ser aplicados em diversas áreas científicas e tecnológicas, indo da química à medicina moderna. Dentro destas características podemos destacar: intensa absorção ótica, alta estabilidade química, ação catalítica, elevada capacidade de se agregar, o que leva à formação de estruturas com alto nível de organização, elevada afinidade com estruturas biológicas, intensa atividade fotodinâmica, entre outras.

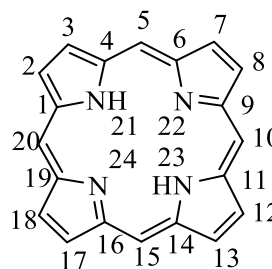
1.3.1 Propriedades gerais das porfirinas

Para as porfirinas existem dois sistemas de nomenclatura aceites, um proposto por Hans Fischer e outro mais recente proposto pela IUPAC.¹⁰²

Segundo a nomenclatura proposta por Hans Fischer, aos 4 anéis de tipo pirrol são atribuídas as letras A, B, C e D e os carbonos externos dos anéis pirrólicos são numerados de 1 a 8. Estas posições são também designadas por posições β -pirrólicas. Os 4 carbonos das pontes metínicas, também denominado por carbonos das posições *meso*, são designados pelas letras gregas alfa (α), beta (β), gama (γ) e delta (δ) (Figura 12.1). A preparação de novas porfirinas e o desenvolvimento de técnicas de análise (RMN, raios-X) tornava difícil a nomeação e identificação dos novos derivados pelo que o sistema proposto inicialmente por Hans Fischer não era o ideal. Assim, na nomenclatura proposta pela IUPAC, todos os átomos de carbono e de azoto do macrociclo são numerados de 1 a 24 (Figura 12.2). Os hidrogénios ligados aos átomos de azoto encontram-se no N-21 e N-23, por convenção. Apesar desta proposta, as designações *meso* e β -pirrólicas continuam a ser utilizadas hoje em dia.^{101,103}



12.1 - Nomenclatura proposta por Hans Fischer



12.2 - Nomenclatura proposta pela IUPAC

Figura 12 – Propostas da nomenclatura dos macrociclos porfirínicos feitas por H. Fischer e pela IUPAC.

As porfirinas, de acordo com a regra de Huckel, são compostos aromáticos. Possuem nuvens cíclicas de eletrões π deslocalizados, acima e abaixo do plano que satisfazem a regra $4n+2$ eletrões π , sendo n um número inteiro. De facto, estes macrociclos contêm um total de 22 eletrões π sendo no entanto apenas 18 os eletrões π responsáveis pelo seu carácter aromático. Assim se explica que as porfirinas percam uma ou duas ligações duplas e mantenham o seu carácter aromático. Na Figura 13 estão representadas duas estruturas de ressonância do macrociclo porfirínico que mostram a deslocalização dos 18 eletrões π .

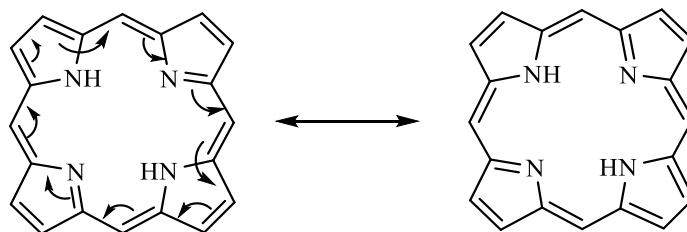


Figura 13 – Estruturas de ressonâncias do macrociclo porfirínico.

A perda de uma ou duas ligações β -pirrólicas origina macrociclos reduzidos que se designam por clorinas quando apresentam uma unidade pirrólica reduzida, bacterioclорinas quando apresentam duas unidades pirrólicas reduzidas em posições opostas e isobacterioclорinas quando as duas unidades pirrólicas reduzidas se encontram em posições adjacentes (Figura 14). Apesar das diferenças estruturais e das diferentes propriedades físicas e químicas, os macrociclos reduzidos podem ter as mesmas aplicações que as porfirinas.^{104,105}

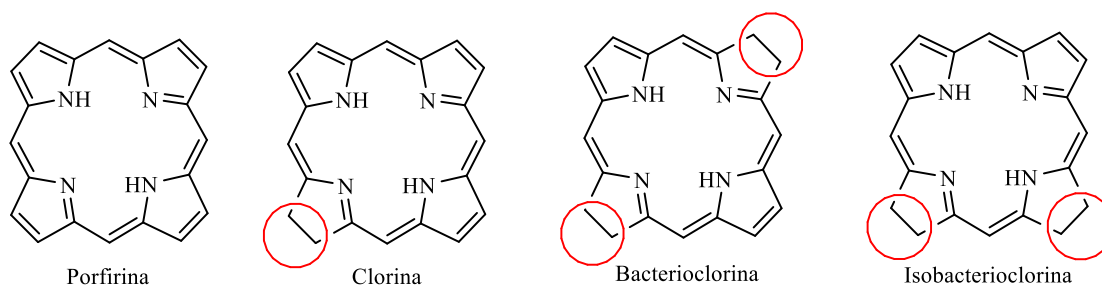


Figura 14 – Macrociclo porfirínico e seus derivados reduzidos.

A aromaticidade do macrociclo também pode ser diretamente confirmada por difratometria de raio X e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN). As análises por difratometria de raio X de porfirinas e metaloporfirinas sugerem que o anel porfirínico é planar o que evidencia o carácter aromático. Nos espectros de RMN de ^1H é possível verificar o elevado efeito de anisotropia magnética resultante do fluxo da corrente à volta do anel, através da grande diferença nos valores dos desvios químicos resultantes da ressonância dos prótons internos pirrólicos, **N-H**, a campos mais elevados (δ entre -2 e -3 ppm) do que os dos prótons do tetrametilsilano (TMS), e os sinais devidos à ressonância dos prótons periféricos *meso* e β -pirrólicos a campos mais baixos (δ entre 7 e 9 ppm).

Outra importante característica que as porfirinas apresentam é a intensa absorção na região do visível. A espectroscopia de absorção no UV-Vis permite distinguir diferentes

tipos de derivados desta família de compostos. O espectro de absorção típico das porfirinas exibe uma intensa banda de absorção a aproximadamente 400 nm, denominada por banda Soret, e bandas de absorção de menor intensidade a comprimentos de onda superiores (entre 450 a 700 nm), denominadas por bandas Q.¹⁰⁶ A banda Soret é originada pelas transições $\pi-\pi^*$, dada a elevada conjugação do núcleo porfirínico (deslocalização de 18 elétrons π). Em relação às bandas Q as suas posições e intensidades permitem-nos identificar o tipo de composto tetrapirrólico em presença. Por exemplo os derivados do tipo clorina, apresentam uma banda Q na região dos 650 nm mais intensa do que as restantes bandas Q. As clorinas possuem menos uma ligação dupla periférica levando à alteração da simetria da molécula resultando num desvio da banda de absorção de radiação para a região do vermelho do espectro. As bacterioclorinas apresentam uma banda de absorção forte na região compreendida entre os 700-750 nm, enquanto as isobacterioclorinas, apresentam uma banda de absorção de fraca intensidade a 650 nm para além de um conjunto de 3 bandas Q entre os 500 e 600 nm.¹⁰⁷

Modificações na estrutura das porfirinas tais como formação de complexos com metais, protonação dos átomos de azoto centrais ou a introdução de grupos em posições periféricas, podem causar alterações significativas no número, intensidade e posição das bandas de absorção. Na Figura 15 estão representados os espectros de UV-Vis típicos de uma porfirina (vermelho), de uma metaloporfirina (roxo) e de uma clorina (verde).

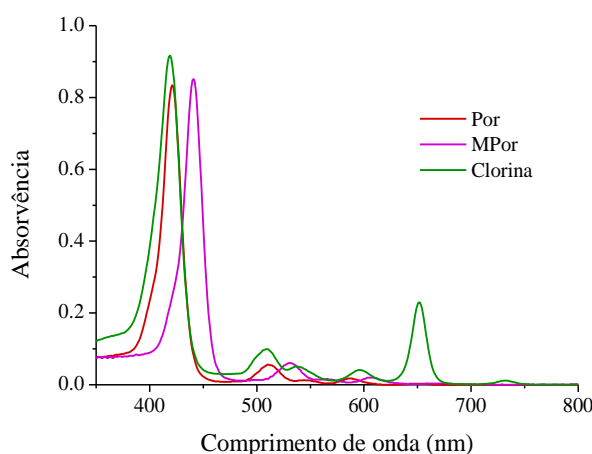


Figura 15 – Espectros UV-Vis de alguns derivados porfirínicos.

1.3.2 Métodos de síntese de macrociclos tetrapirrólicos

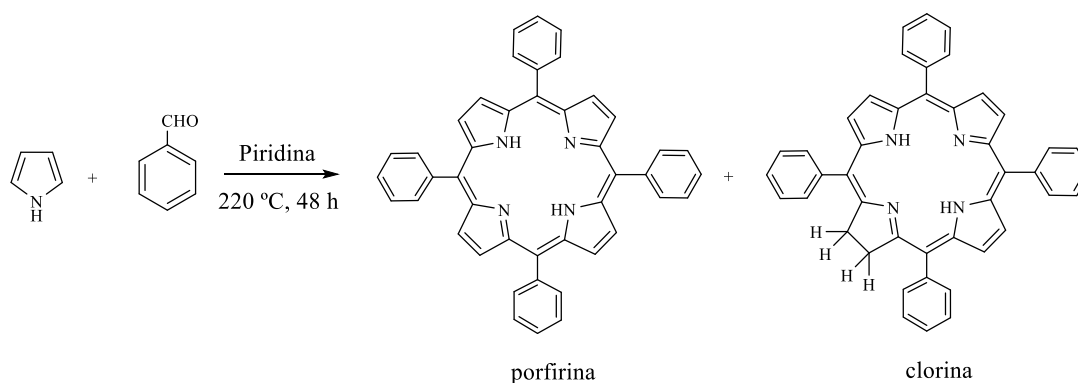
Um certo número de porfirinas com diversas estruturas e características físico-químicas podem ser isoladas da natureza ou sintetizadas. A síntese de macrociclos

porfirínicos pode ocorrer segundo duas vias: através de síntese partindo de unidades básicas como o pirrol e o aldeído, ou introduzindo modificações em porfirinas, quer de origem natural que de origem sintética. De seguida, será feita uma breve revisão sobre as metodologias utilizadas na preparação de porfirinas substituídas nas posições *meso* por se adequarem ao trabalho realizado no âmbito deste doutoramento.

1.3.2.1 Síntese de porfirinas *meso*-substituídas simétricas

As diferentes metodologias de síntese de porfirinas *meso*-substituídas baseiam-se, de forma geral, no trabalho pioneiro de Rothemund, que usou na sua preparação matérias-primas simples e baratas.

Rothemund em 1935¹⁰⁸ conseguiu obter macrociclos porfirínicos pela adição de aldeídos aromáticos a pirrol, dando-se uma série de reações de condensação que terminam com a ciclização oxidativa. Seguindo este método foi efetuada a preparação da *meso*-tetrafenilporfirina (TPP) pela primeira vez em 1936.¹⁰⁹ A reação decorreu em piridina, em ambiente fechado e à temperatura de 220 °C durante 48 horas (Esquema 1). Este procedimento permitiu obter 25 porfirinas *meso*-substituídas diferentes apesar dos baixos rendimentos pois a porfirina surgia contaminada com a sua respetiva clorina. Quando isoladas os rendimentos de reação eram muito baixos, inferiores a 5%.



Esquema 1

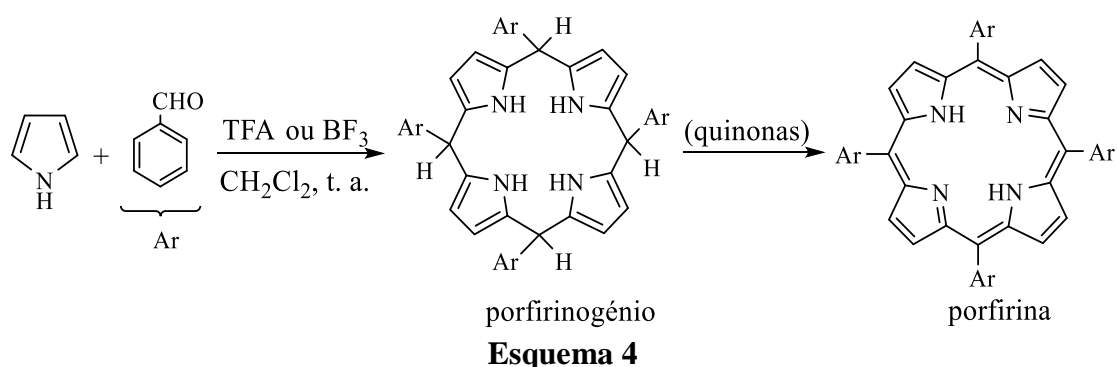
Os trabalhos deste autor só vieram a merecer atenção e continuidade bastante mais tarde quando Adler e Longo¹¹⁰ retomaram os estudos de Rothemund e realizaram a condensação de uma mistura equimolar do pirrol e aldeído usando meio ácido e condições aeróbicas (Esquema 2).



Uma abordagem diferente para a síntese destes compostos foi introduzida por Gonsalves e colaboradores em 1985.¹¹² Nesta abordagem a síntese processou-se em dois passos. No primeiro passo ocorre a condensação/ciclização (Esquema 3) do pirrol com aldeído originando a formação do porfirinogénio e o segundo passo envolve a oxidação deste a porfirina. No primeiro passo é utilizado tetracloreto de carbono, como solvente, na presença de um catalisador ácido, o ácido trifluoracético (TFA), em atmosfera inerte. A oxidação ocorre utilizando métodos fotoquímicos [na presença de ar sob irradiação com luz (Esquema 3 via a)] ou usando uma quantidade estequiométrica de quinonas (Esquema 3 via b).

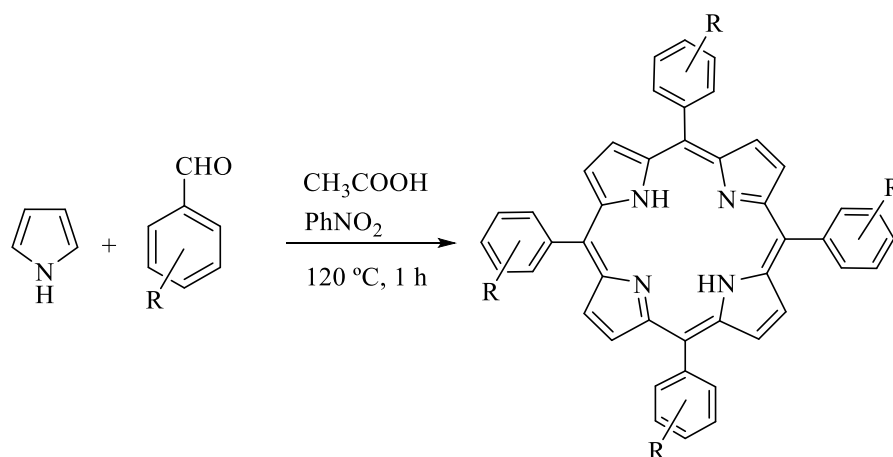


Simultaneamente, Lindsey e colaboradores¹¹¹ desenvolveram a metodologia de síntese que se baseava no facto da formação do intermediário, o porfirinogénio, ser termodinamicamente favorável quando o pirrol e o benzaldeído são condensados em condições apropriadas. O porfirinogénio foi sintetizado por condensação do pirrol com aldeídos aromáticos numa solução diluída de um solvente clorado (CHCl_3 ou CH_2Cl_2) à temperatura ambiente, usando um catalisador ácido (TFA ou $\text{BF}_3 \cdot \text{EtO}_2$). A oxidação do porfirinogénio à correspondente porfirina efetuou-se usando quinonas, como exemplo geral a 2,3-diciano-5,6-diclorobenzoquinona (DDQ) (Esquema 4).¹¹³



Seguindo esta metodologia foi sintetizada uma série de porfirinas com substituintes arilo com grande sucesso (para a TPP foram obtidos rendimentos próximo dos 50%). A eficiência deste método depende dos grupos substituintes que o aldeído apresenta e das condições de reação. Tem a desvantagem da necessidade de grandes diluições no primeiro passo, da utilização de um oxidante caro e de processos de purificação muito elaborados e dispendiosos.

Mais tarde, Gonsalves e colaboradores desenvolveram outro método sintético em que, num só passo se promove a síntese do macrociclo porfirínico (Esquema 5).¹¹⁴

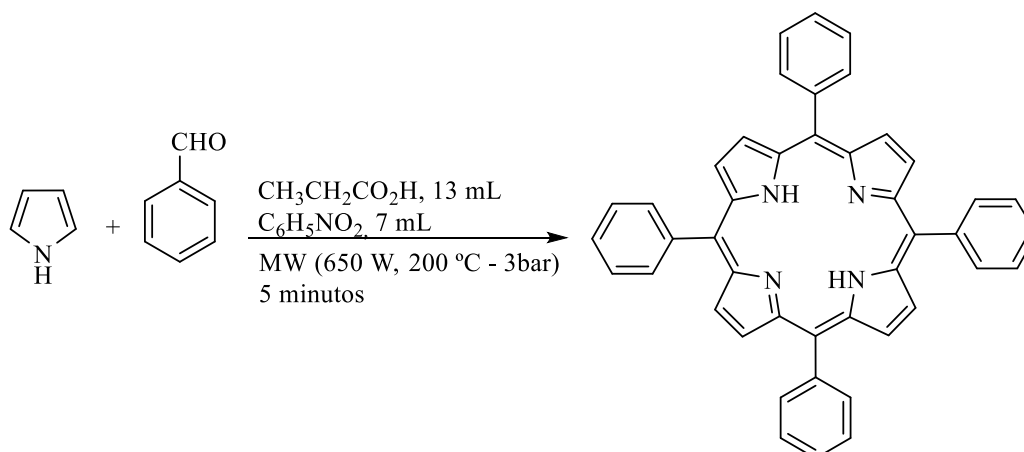
**Esquema 5**

A reação decorre a $120\text{ }^\circ\text{C}$ durante uma hora e numa mistura de ácido acético e nitrobenzeno, que é considerada muito eficiente na promoção da oxidação do porfirinogénio a porfirina, obtendo-se o mesmo derivado porfirínico sem contaminação da correspondente clorina. Apesar dos rendimentos obtidos por esta via serem inferiores, comparados com os obtidos nas metodologias anteriores, este método é francamente vantajoso uma vez que, na maioria dos casos, a porfirina isola-se do meio reacional por precipitação direta após arrefecimento. O nitrobenzeno atua como oxidante, capaz de transformar facilmente os intermediários reduzidos (porfirinogénio e clorina) na correspondente porfirina.

O uso de radiação por micro-ondas em síntese orgânica tem-se tornado muito comum nos dias de hoje. Sínteses orgânicas envolvendo radiação micro-ondas permitem encurtar tempos de reação e melhorar significativamente os rendimentos, quando comparadas com as reações em condições clássicas.¹¹⁵ Tem sido demonstrado que não só porfirinas mas também os seus complexos metálicos podem ser preparados com recurso a radiação micro-ondas.¹¹⁵

Os primeiros estudos com o uso de radiação micro-ondas em porfirinas foram reportados por Momenteau e colaboradores.¹¹⁶ Obtiveram a TPP numa reação de 10 minutos com um rendimento de 9,5%. Desde então, várias publicações podem ser encontradas onde são referidas reações em micro-ondas envolvendo porfirinas. Estudos desenvolvidos pelo grupo de investigação de Química Orgânica da Universidade de Aveiro mostraram que usando as condições de Adler, e com recurso a radiação micro-ondas, se consegue preparar a TPP com um rendimento de cerca de 35% em apenas

5 minutos, sob uma potência de 650 W num sistema sob pressão (3 bar a 200 °C) (Esquema 6).¹¹⁷

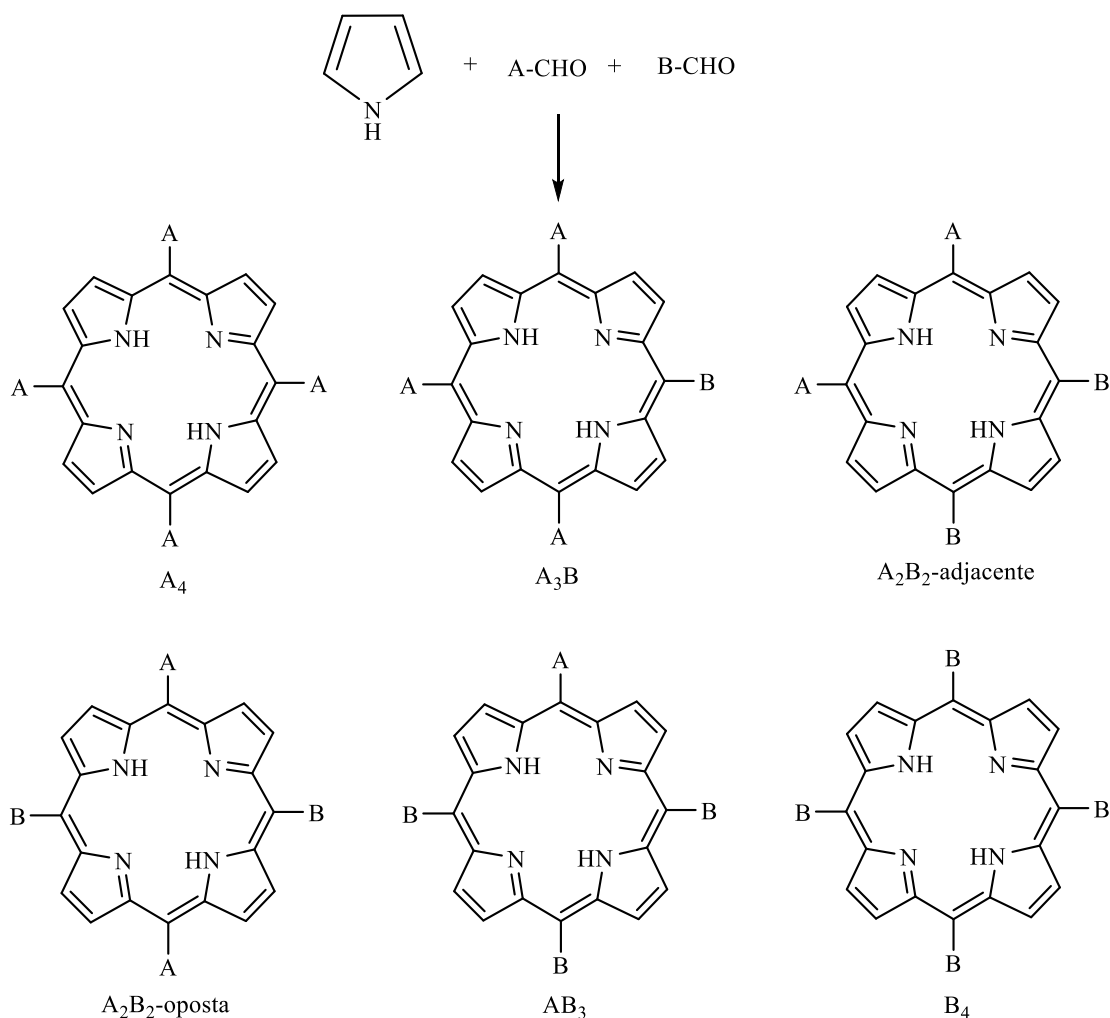


Esquema 6

1.3.2.2 Síntese de porfirinas *meso*-substituídas não simétricas

Os métodos de síntese propostos anteriormente permitem preparar porfirinas *meso*-substituídas não simétricas, se a condensação do pirrol for realizada na presença de uma mistura de aldeídos, obtendo-se no final da reação uma mistura de macrociclos porfirínicos. Por exemplo, se considerarmos uma mistura de dois aldeídos A e B, de reatividade semelhante na razão de 3:1, poder-se-á obter a combinação de porfirinas apresentada no Esquema 7.¹¹⁸ A quantidade obtida dos diferentes macrociclos formados depende da proporção de aldeídos usados na mistura reacional e sendo assim, da sua reatividade. Este tipo de abordagem foi inicialmente proposto por Ibers e colaboradores.¹¹⁹

Como exemplo, se o objetivo da síntese fosse obter o macrociclo A₂B₂-adjacente e o A₂B₂-oposta e se a reação seguir uma distribuição estatística, a obtenção dos macrociclos pretendidos poderá ser maximizada se a concentração em solução do aldeído A for igual à do aldeído B.

**Esquema 7**

1.3.2.3 Síntese de porfirinas por reação de dipirrometanos

Na síntese de porfirinas e macrociclos pirrólicos, os dipirrometanos (DPM) ocupam um lugar de destaque. Estes são mesmo bastante utilizados como precursores de porfirinas *meso* substituídas em posições opostas (5,15-di-substituídas) contendo no macrociclo diferentes grupos substituintes,¹²⁰⁻¹²² derivados porfirínicos expandidos e análogos porfirínicos,¹²³ bem como calix[4]pirróis.¹²⁴ Para este êxito contribuem a sua reatividade, facilidade de síntese e diversidade de substituintes que podem possuir.

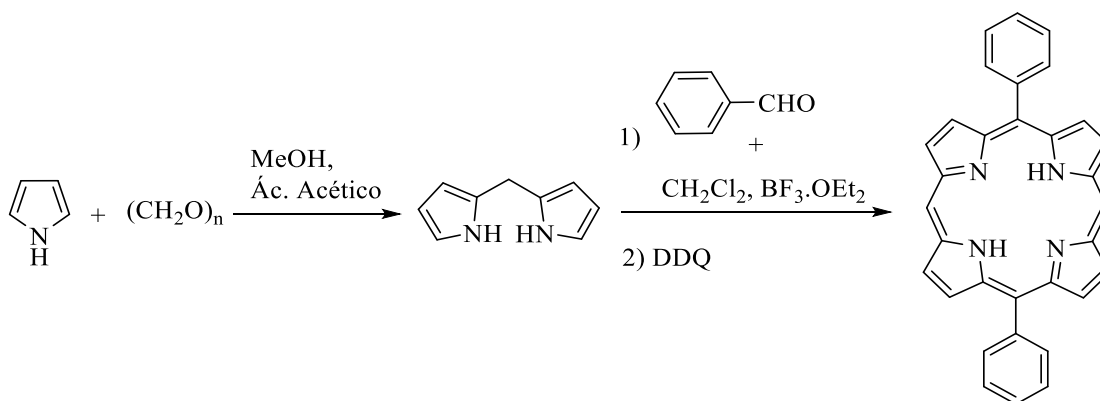
Os dipirrometanos podem ser obtidos por várias rotas de síntese, sendo no entanto a mais utilizada a condensação em meio ácido do pirrol com um aldeído. Nesta rota de síntese o dipirrometano é preparado por condensação direta de paraformaldeído com pirrol em excesso (Esquema 8). São utilizadas várias combinações de solventes e ácidos, tal como ácido *p*-toluenossulfônico, ácido propanóico, BF₃.OEt₂ ou TFA na presença de metanol, diclorometano, ou mesmo na ausência de qualquer solvente.



Esquema 8

Mais recentemente, foi apresentada uma nova rota de síntese de dipirrometanos não substituídos nas posições *meso*, num único passo. Nesta rota de síntese o dipirrometano foi preparado por condensação direta de paraformaldeído com pirrol em excesso. Este, depois da reação, pode ser facilmente removido por destilação a pressão reduzida à temperatura ambiente.

Assim para se poder sintetizar porfirinas 5,15-di-substituídas, podemos começar por sintetizar o dipirrometano não substituído, por condensação de pirrol com paraformaldeído, numa mistura de metanol em ácido acético, à temperatura ambiente. Terminada a reação, evapora-se o ácido acético e o pirrol utilizado em excesso, e isola-se o dipirrometano. Depois de purificado, a condensação com aldeídos aromáticos ou alifáticos ocorre em clorofórmio, sendo catalisada por $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Após oxidação do porfirinogénio por DDQ obtém-se a porfirina 5,15-di-substituída pretendida (Esquema 9).



Esquema 9

1.3.3 Aplicações de macrociclos porfirínicos

Atendendo às propriedades químicas e físicas já conhecidas das porfirinas, estas têm sido maioritariamente utilizados na medicina, nomeadamente em terapia fotodinâmica (PDT).¹²⁵⁻¹²⁷ De facto, estes compostos têm sido aplicados com grande sucesso na deteção e tratamento de situações oncológicas, e em algumas não oncológicas, como é o caso da oftalmogia.^{128,129} Estes macrociclos tem ainda sido utilizados nas áreas

dos catalisadores,^{130,131} novos materiais eletrônicos,¹³² células fotovoltaicas,^{133,134} sistemas para ótica não linear,¹³⁵ na fotoinativação de microrganismos tais como vírus¹³⁶ e bactérias^{137,138}, entre outros.

1.3.4 Porfirinas como quimiossensores de aniões

Uma vez que o núcleo da porfirina é planar e a sua cavidade central é bastante pequena, os NH internos não se encontram disponíveis para interagir com espécies cujos raios iónicos sejam grandes, como é o caso dos aniões. No entanto, quando os NH se encontram protonados pode ocorrer alguma interação.⁹⁸ Mesmo assim poucos são os exemplos reportados na literatura que utilizam porfirinas protonadas como quimiossensores de aniões, mostrando que a interação com estas espécies ocorre fora do plano do macrociclo aromático. Assim o processo de reconhecimento de espécies aniónicas nas porfirinas ocorre preferencialmente nos seus substituintes periféricos. Outra forma de reconhecimento de aniões com porfirinas ocorre quando estas se encontram complexadas com metais que são capazes de coordenação axial, como é por exemplo o caso do metal zinco.

Um dos primeiros trabalhos a ser publicado com porfirinas como quimiossensor de aniões, em 1998, descreve a síntese de uma serie de compostos de ureia **1.01–1.07** (Figura 16), obtidos por reação com diferentes derivados de isocianatos. Os estudos realizados demonstraram que os derivados porfirínicos exibiam uma maior afinidade a aniões esféricos como o Cl^- e Br^- quando comparados com aniões de geometria tetraédrica (H_2PO_4^- e HSO_4^-) ou trigonal (NO_3^-) em $\text{DMSO}-d_6$. De facto, a tendência de seletividade é $\text{Cl}^- > \text{Br}^- >> \text{H}_2\text{PO}_4^- > \text{HSO}_4^- > \text{NO}_3^-$.⁹² A análise cristalográfica por raios-X permitiu verificar pela primeira vez o complexo de coordenação de um anião (cloreto ou brometo) a uma porfirina de base livre e que cada molécula de quimiossensor complexa com um anião e cinco moléculas de DMSO. O DMSO, solvente utilizado em alguns dos testes com aniões, é um solvente competitivo, uma vez que interage com o sensor de uma forma similar à verificada com os aniões.

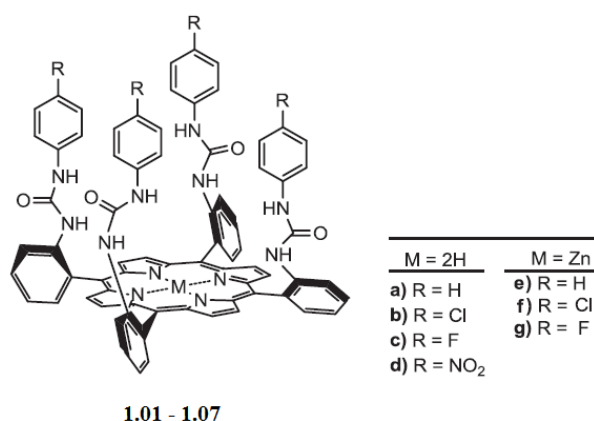


Figura 16 – Derivados porfirínicos da ureia.

Iwata *et al.*,¹³⁹ reportaram em 1999 a síntese de complexos metálico porfirínicos contendo um grupo éter coroa para interagir simultaneamente com aniões e cátions. Os quimiossensores sintetizados possuem dois pontos de interação, o éter coroa para os cátions e a porfirina complexada com dois diferentes metais (zinco e magnésio) para interagir com os aniões. Os estudos foram efetuados em RMN de ¹H, tendo sido demonstrado que o reconhecimento de cátions ou aniões é altamente dependente do metal que está no interior da porfirina, isto é, o complexo de zinco **1.08** (Zn-MCEPP) reconhece preferencialmente aniões (Figura 17) enquanto o complexo de magnésio **1.09** (Mg-MCEPP) reconhece cátions de forma mais eficaz.

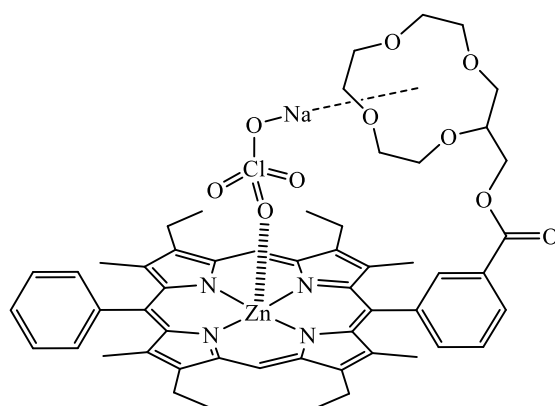
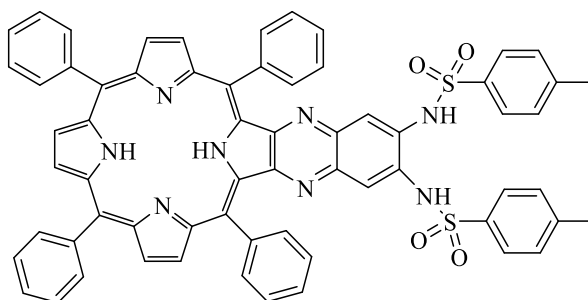


Figura 17 – Complexo formado entre a Zn-MCEPP e o perclorato de sódio.¹³⁹

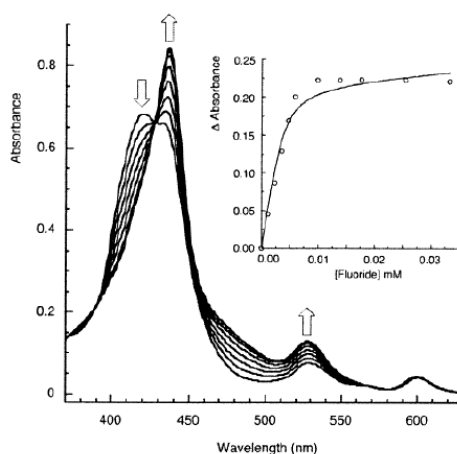
Em 2002 foi também reportado a síntese da porfirina **1.10** (Figura 18) contendo dois grupos sulfonamida. A porfirina **1.10** foi sintetizada pela condensação da 5,10,15,20-tetrafenilporfirina-2,3-diona com 1,2-diamino-4,5-ditosilaminobenzeno tendo sido obtido com um rendimento final de 72%.¹⁴⁰



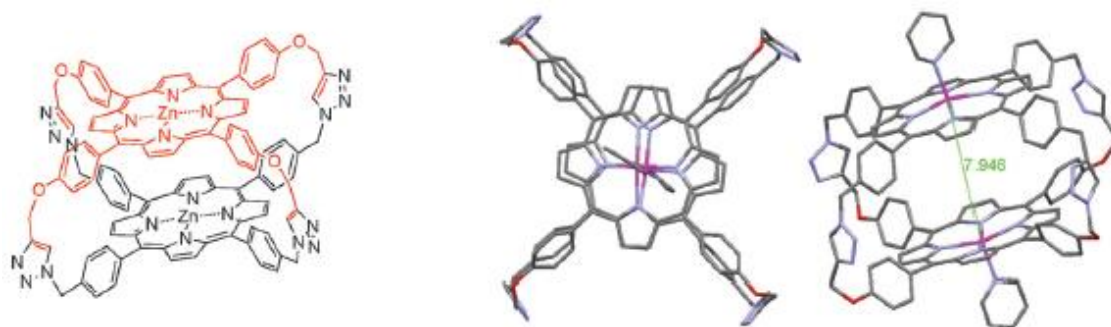
1.10

Figura 18 – Estrutura da porfirina **1.10**.¹⁴⁰

Testes com aniões, realizados por UV-Vis, mostraram que o quimiossensor, na presença de iões fluoreto, acetato e di-hidrogenofosfato (na forma de sais de tetrabutilamónio, TBA) tem a capacidade, embora pequena, para acomodar dois aniões.¹⁴⁰ Essa interação com aniões foi detetada por perturbação da banda Soret e das bandas Q da porfirina. A banda Soret da porfirina **1.10**, situada a 422 nm, apresenta um desvio batocrómico de 12 a 16 nm quando são adicionados os diferentes aniões.¹⁴⁰ Na Figura 19 está ilustrado o espectro de UV-Vis obtido a partir da adição de uma solução de anião fluoreto ao recetor **1.10** em CH₂Cl₂.

**Figura 19** – Espectro UV-Vis da titulação do recetor **1.10** com o anião fluoreto.¹⁴⁰

Outro composto utilizado para o reconhecimento de aniões com porfirinas foi recentemente desenvolvido por Zhang *et al* e consiste numa “smart cage” porfirínica (Figura 20) que é capaz de reconhecer aniões azida.¹⁴¹ O macrociclo porfirínico **1.11** foi sintetizado e caracterizado por RMN de ¹H, espetrometria de massa MALDI-TOF e por análise estrutural de raios-X.

**1.11****Figura 20** – Estrutura de raios-X da "smart cage" porfirínica **1.11**.¹⁴¹

Os autores estudaram a química de hospedeiro-hóspede monitorizando as alterações espectroscópicas de RMN de ^1H causadas pela adição do anião azida, em forma de tetrabutilamônio, à caixa porfirínica inteligente **1.11** em acetona- d_6 . Estas titulações permitiram aos autores observarem a formação de dois tipos de complexos. Até à adição de 0,4 equiv. de N_3^- os sinais do espectro de RMN de ^1H do complexo apresentaram desvios para campos mais protegidos confirmando a formação do complexo porfirina:anião, onde o anião interage dentro da caixa. Com a adição de mais equivalentes, os sinais de RMN de ^1H do primeiro complexo formado quase que desaparecem. Continuaram a titulação e entre 1,6 equiv. e 30 equiv., a coordenação do ião N_3^- começa a ocorrer fora da caixa. As propriedades de coordenação entre a caixa porfirínica e o ião N_3^- foram também estudadas por espectroscopia de UV-Vis (Figura 21). A cor da solução mudou de vermelho para verde durante a titulação, devido à coordenação com o ião N_3^- . O espectro de UV-Vis da caixa **1.11** apresenta um desvio bacterocrômico na banda Q (cerca de 13 nm). Os autores também testaram outros aniões, como o SCN^- , mas os resultados conseguidos foram semelhantes aos obtidos anteriormente com o N_3^- .¹⁴¹

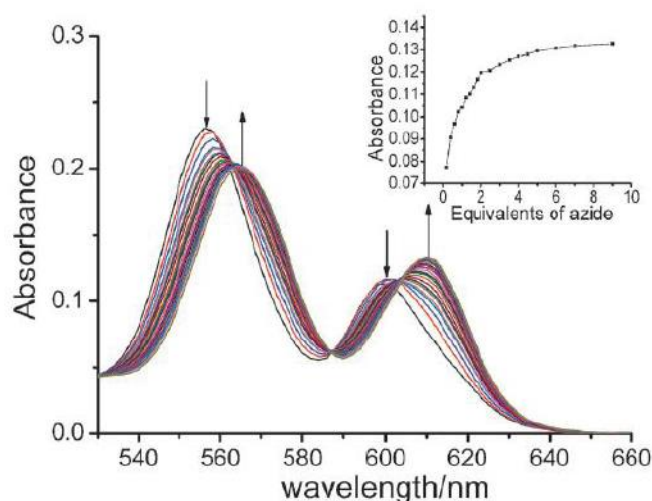


Figura 21 – Espetro de UV-Vis da titulação da caixa **1.11** com N_3^- .¹⁴¹

Recentemente Kumar *et. al.*¹⁴² desenvolveram uma série de complexos porfirínicos de Ni(II) com posições β substituídas (Figura 22). Os compostos **1.12-1.14** foram preparados por substituição nucleofílica nas posições β -pirrólicas da tetrabromoporfirina enquanto os compostos **1.15-1.16** foram sintetizados por substituição direta na posição β -pirrólica do anel do macrociclo.

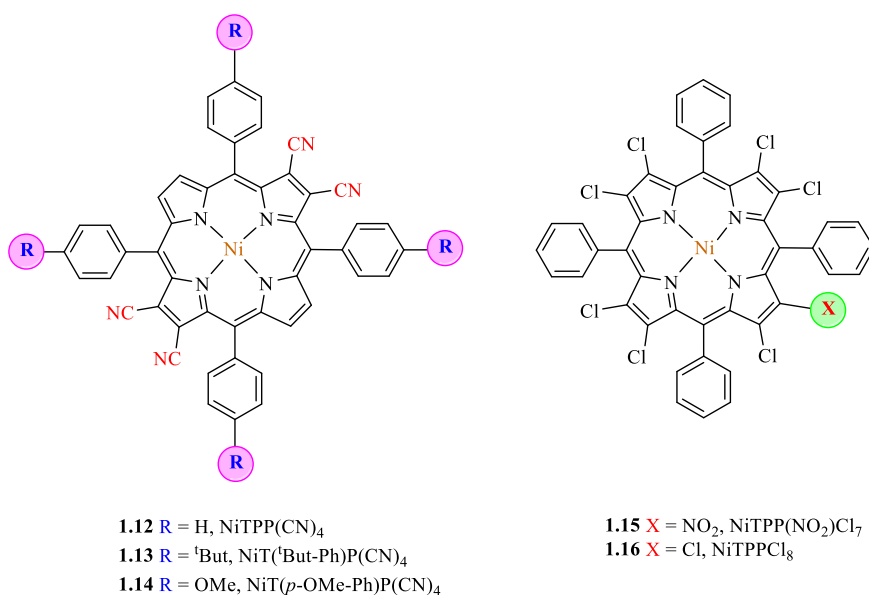


Figura 22 – Porphirinas β -substituídas complexadas com Ni(II) (**1.12-1.16**).¹⁴²

Demonstraram que os compostos **1.12-1.16** apresentam uma resposta colorimétrica e estequiométrica específica para os aniões cianeto em comparação com outros aniões em tolueno (Figura 23).

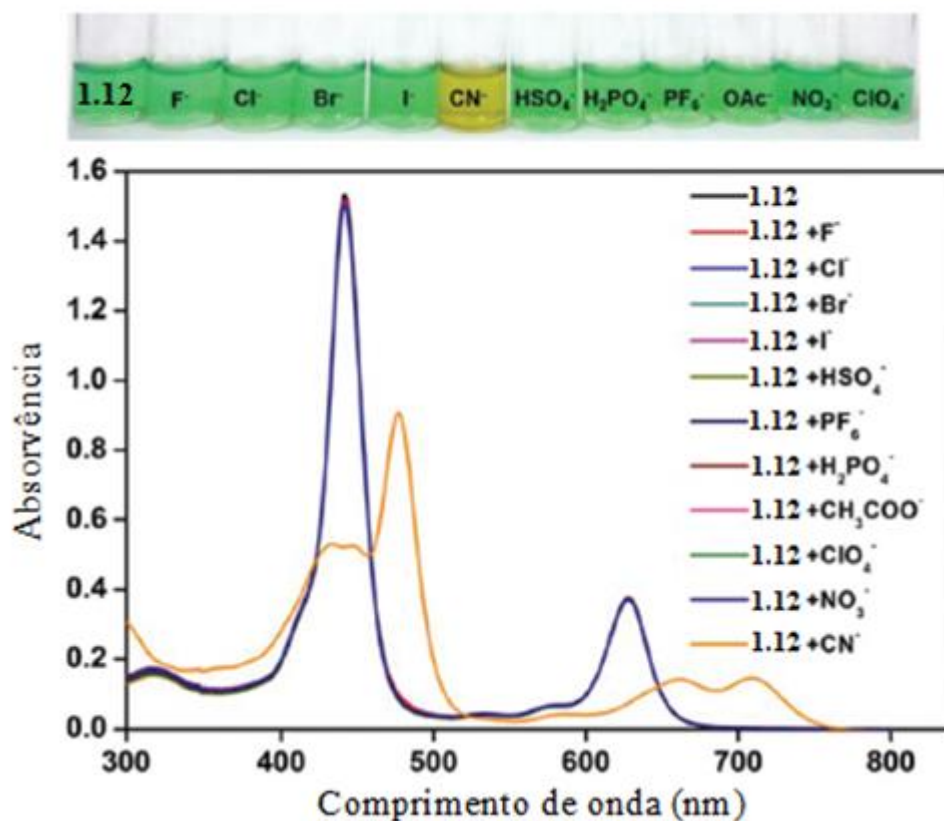


Figura 23 – (Em cima) Efeito colorimétrico de **1.12** quando adicionado a diferentes aniões. (Em baixo) Espectro de UV-Vis de **1.12** quando titulado com um excesso de diferentes aniões.¹⁴²

Os compostos **1.12-1.14** apresentam uma geometria planar bastante rígida e constantes de afinidade elevadas e ligam-se a dois equivalentes de ião cianeto de uma forma altamente cooperativa (através de coordenação axial) em comparação dos compostos **1.15-1.16** que apresentam uma geometria não planar. Estes compostos são capazes de detetar os iões cianeto em concentrações muito baixas (LD < 0,11 ppm). Os estudos revelaram também a reversibilidade dos sensores **1.12-1.16**, isto é, podem ser recuperáveis com tratamento em meio ácido e reutilizáveis para a deteção de cianeto sem perderem sensibilidade na sua capacidade de deteção (Figura 24).

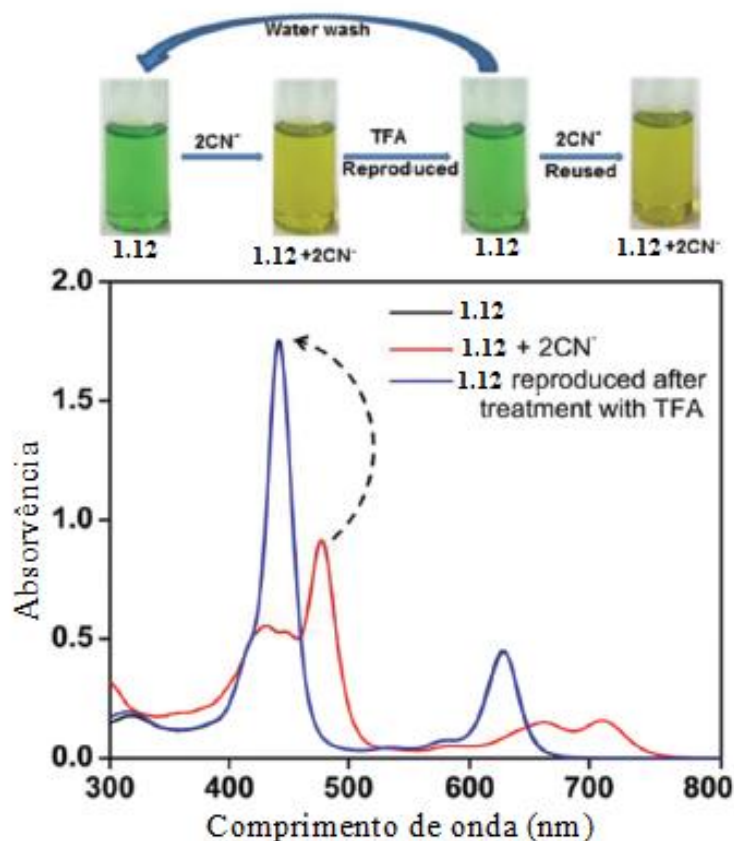


Figura 24 – Efeito colorimétrico do composto **1.12** e os testes de recuperação e reutilização com o anião cianeto (em cima) e as correspondentes alterações no espectro de UV-Vis (em baixo).¹⁴²

1.4 Ftalocianinas

As ftalocianinas são uma classe de compostos que apesar de possuírem estrutura semelhante à das porfirinas, não são de origem natural, apenas sintética. O primeiro composto da família foi denominado em 1933 por ftalocianina, cujo nome deriva de *phthalo* (anidrido ftálico) e *cyanine* (azul). Apresentam cores fortes e brilhantes, sendo compostos com propriedades interessantes para estudar. Na indústria das tintas são mesmo considerados um dos desenvolvimentos importantes.¹⁴³

Devido às suas potenciais propriedades, as ftalocianinas têm uma ampla gama de aplicações, nomeadamente na indústria de corantes e tintas e em outras aplicações, tais como em terapia fotodinâmica,¹⁴⁴⁻¹⁴⁹ em catálise,¹⁵⁰⁻¹⁵⁴ células fotovoltaicas,¹⁵⁵⁻¹⁶⁰ condutores poliméricos^{161,162} e sensores químicos¹⁶³⁻¹⁶⁸

1.4.1 Propriedades principais das ftalocianinas

As ftalocianinas são macrociclos constituídos por quatro unidades isoíndol, ligados entre si por pontes aza nas posições 1,3, formando um anel planar com um sistema conjugado de 18 elétrons π . Tal como as porfirinas, as ftalocianinas tanto surgem na forma de bases livres, com dois dos quatro azotos do anel central ligados covalentemente a dois átomos de hidrogénio (Figura 25 a), como na forma de ftalocianinas metálicas, onde um ião metálico se encontra coordenado covalentemente com os átomos de azoto centrais (Figura 25 b). Nesta figura está também representada a numeração tradicionalmente utilizada na nomenclatura das ftalocianinas. As posições internas e externas do anel benzénico fundido são também vulgarmente conhecidas como posições α e β , respetivamente. As ftalocianinas aparecem vulgarmente substituídas no anel benzénico sendo a conjugação destes dois fatores, introdução do metal central e variação dos substituintes que permite desenvolver novos materiais com propriedades relevantes nomeadamente em termos dos seus espectros de absorção e emissão. As inúmeras propriedades dadas pela deslocalização eletrónica permite a utilização destes compostos em vários campos da ciência e tecnologia, devido à versatilidade e à estabilidade química e térmica adquirida.¹⁵⁶

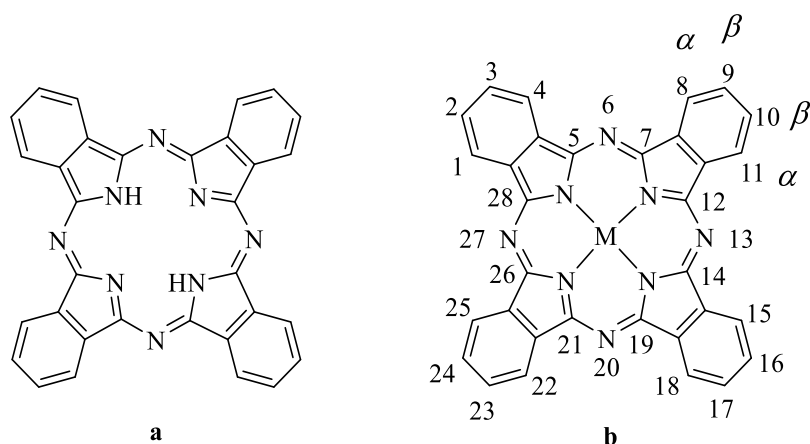


Figura 25 – Estrutura de uma Pc e de uma MPc.

As ftalocianinas exibem uma enorme versatilidade, pois como já foi referido contêm dois átomos de hidrogénio no interior da cavidade central do anel aromático que podem ser substituídos por mais de 70 cátions metálicos ou não-metálicos. Com a introdução de um ião metálico no núcleo do macrociclo obtemos uma ftalocianina denominada por metaloftalocianina (MPc). Uma variedade de substituintes podem ser

incorporados na periferia do macrociclo e nas posições axiais, permitindo um ajuste adequado das propriedades físico-químicas desejadas. Podem ser feitas também várias modificações no anel da ftalocianina originando os denominados compostos análogos de ftalocianinas. As alterações estruturais mais comuns que levam à obtenção de compostos análogos são a extensão do sistema π , a variação do número de unidades isoíndol e a substituição dos grupos isoíndol por outros anéis aromáticos.¹⁵⁶

O sistema aromático extensivamente conjugado das ftalocianinas faz gerar bandas intensas nos seus espectros de absorção. A banda de absorção mais forte, denominada por banda Q, encontra-se geralmente na região do visível para comprimentos de onda entre os 650 e os 670 nm, enquanto outra banda de intensidade mais baixa, denominada por banda Soret, encontra-se a cerca dos 340 nm.^{169,170} Ambas estas bandas estão correlacionadas com a transição $\pi \rightarrow \pi^*$.^{169,170} Na Figura 26, estão apresentados os espectros de absorção UV-Vis típicos de uma Pc (linha contínua) e de uma MPc (linha descontinua).

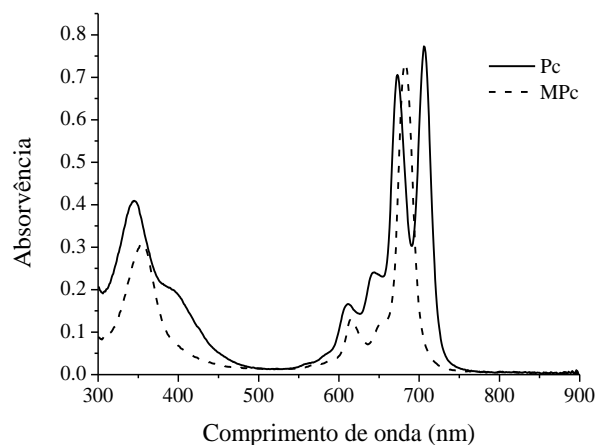


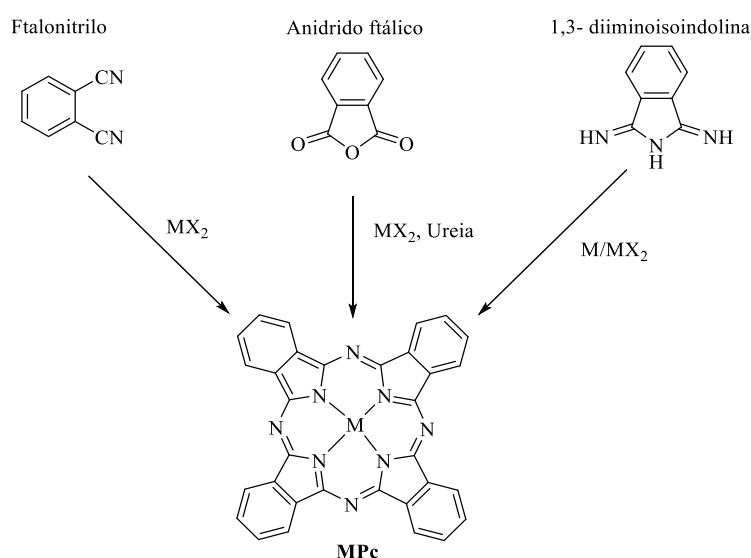
Figura 26 – Espectro UV-Vis de uma Pc (linha contínua) e de uma MPc (linha descontinua).

A absorção preferencial a comprimentos de onda maior, na região da luz vermelha, origina a cor azul característica das ftalocianinas. A introdução de um ião metálico no interior da cavidade irá originar um ligeiro deslocamento da banda Q para comprimentos de onda mais pequenos, devido a uma redução da densidade de eletrões, havendo um maior deslocamento para o azul relacionado diretamente com o campo eletromagnético do ião metálico utilizado.

Uma das grandes desvantagens das ftalocianinas não-substituídas é a sua grande insolubilidade em água e também na maioria dos solventes orgânicos. Esta propriedade pode ser explicada pela alta planaridade destes macrociclos, o que significa que têm uma maior tendência para formar uma estrutura organizada (empilhamento π - π), o que resulta na formação de cristais/agregados estáveis. No entanto, a sua solubilidade pode ser aumentada através da introdução de grupos de cadeias longas ou grupos volumosos na periferia do macrociclo e, quando possível, com inserção de um ião metálico de coordenação com ligandos axiais (substituição axial). Uma das formas mais usadas para introduzir modificações na periferia das ftalocianinas é alterando os precursores antes de se proceder à síntese das mesmas.

1.4.2 Síntese de ftalocianinas

Existem vários processos de síntese de ftalocianinas, estando estes dependentes dos precursores que se podem usar para as obter. As ftalocianinas podem ser sintetizadas a partir do ácido ftálico e derivados: anidridos, ftalonitrilos, ftalimidas e diiminoisindolinas. No entanto, os processos mais utilizados são via ftalonitrilos, anidridos ftálicos e 1,3- diiminoisindolinas (Esquema 10), geralmente pela cicl tetramerização destes.



Esquema 10

Duas metodologias são utilizadas para introduzir grupos substituintes na periferia do anel das ftalocianinas: por substituição direta numa ftalocianina já existente ou por

ciclotetramerização de precursores com os grupos já presentes. Na modificação de uma ftalocianina já existente, dependendo dos grupos funcionais, poderão ter de ser usadas condições de reação bastantes agressivas que podem levar a obtenção de misturas isoméricas ou mesmo degradação. Nesses casos a sua purificação pode ser morosa e difícil. Um método muito mais fácil e mais limpo de controlar esse tipo de reações pode ser obtido através da condensação de precursores já funcionalizados. No caso dos precursores apresentarem uma forma não simétrica, formam-se isómeros, com um número de substituintes e a sua posição relativa conhecida. Este é o método mais usado para a funcionalização deste tipo de macrociclos.

O uso de ftalonitrilos para a obtenção de ftalocianinas exige um catalisador básico, tal como o 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (DBU), num solvente alcoólico (por exemplo, *N,N*-dimetilaminoetanol (DMAE) ou pentan-1-ol) e aquecimento na presença de iões metálicos, tais como Li^+ ou Mg^{2+} . Um tratamento com ácido, no caso do Mg^{2+} , é necessário para remover o metal central da ftalocianina. O aquecimento da base livre com um sal metálico resulta na obtenção da metaloftalocianina. Para a síntese de ftalocianinas substituídas, a reação é realizada com os precursores que foram previamente modificados com a introdução dos grupos substituintes desejados. A ciclotetramerização de ftalonitrilos oferece uma síntese mais fácil de ser controlada do que a sua adição posterior ao macrociclo. O mecanismo de formação, apesar de não estar completamente elucidado, vem sendo extensamente estudado e provavelmente envolve uma polimerização dos reagentes precursores, seguida de coordenação do metal central e fecho do anel no macrociclo. O fecho do anel acontece não só pelo efeito template do metal, e a inerente estabilização que essa coordenação implica, mas também pela estabilização termodinâmica e a introdução da aromaticidade que envolve a formação do macrociclo.¹⁷¹

A maioria das purificações de ftalocianinas são difíceis e morosas, devido a fatores como a baixa solubilidade ou polaridade de algumas destas moléculas. A funcionalização dos ftalonitrilos pode simplificar a obtenção da ftalocianina substituída desejada, evitando mesmo qualquer purificação adicional. Assim, ftalonitrilos comerciais (Figura 27) podem ser facilmente funcionalizados (através de substituição nucleofílica ou electrofílica aromática) diretamente com várias unidades desejadas. Dessa forma, através da ciclotetramerização dos mesmos obtém-se a respetiva ftalocianina com os substituintes nas posições desejadas.

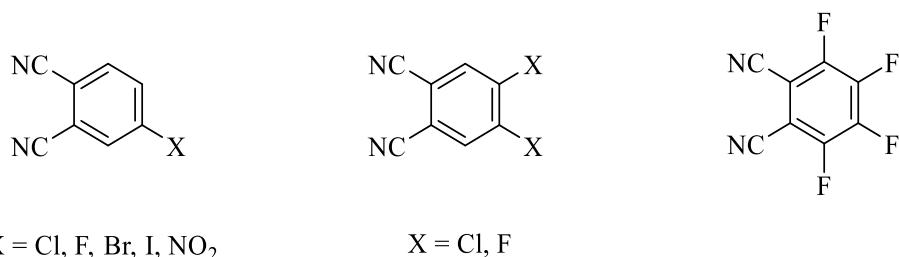


Figura 27 – Exemplos de ftalonitrilos que podem ser usados e modificados.

As ftalocianinas podem ser obtidas com vários grupos simetricamente ou assimetricamente distribuídos (Figura 28).

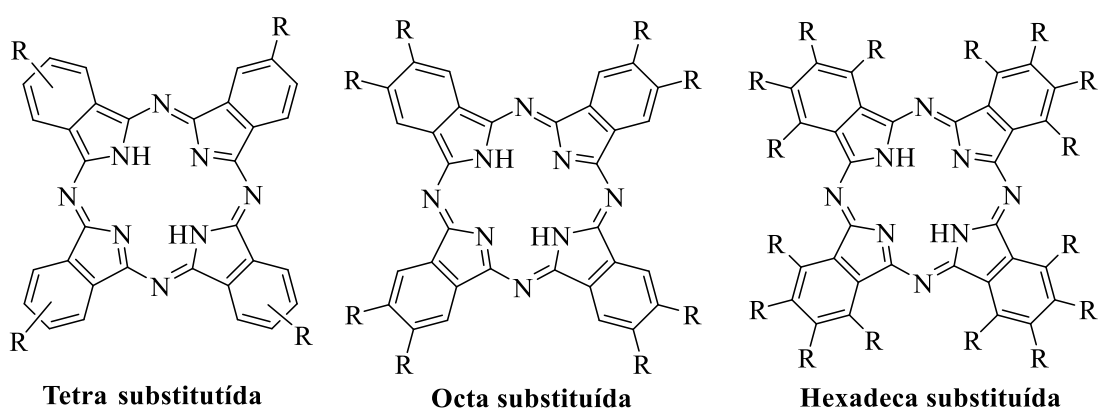


Figura 28 – Estruturas de Pcs tetra-, octa- e hexadeca-substituída.

Ftalocianinas tetra-substituídas, sintetizadas a partir de ftalonitrilos mono substituídos, levam-nos à obtenção de uma mistura de regioisômeros. Mediante a posição do grupo substituinte no precursor, quatro tipos de ftalocianinas tetra-substituídas podem ser obtidas desta forma. A mistura de isômeros obtidos a partir dos precursores ocorre na mistura estatística de 12,5% (C_{4h}), 25% (C_{2v}), 50% (C_s) e 12,5% (D_{2h}) isômeros (Figura 29).

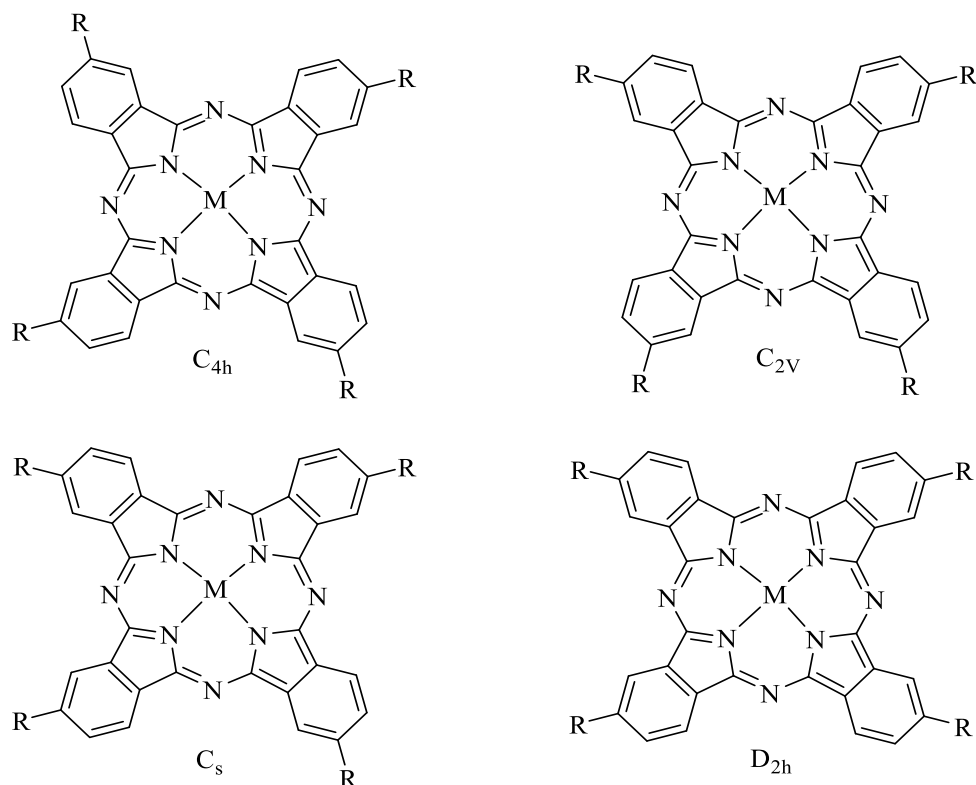


Figura 29 – Possíveis isômeros de ftalocianinas tetra-substituídas.

As ftalocianinas assimétricas são mais difíceis de se obter do que as simétricas, pois a mistura reacional que se obtém é constituída por diversas frações, tornando-se assim necessária a purificação de cada uma das frações para se poderem isolar os compostos. A condensação de ftalonitrilos com diferentes grupos funcionais leva à formação de ftalocianinas assimétricas. A condensação estatística é muito usada para a síntese de ftalocianinas contendo três unidades de isoindole iguais (A) e uma diferente (B), designadas por ftalocianinas A_3B . O método baseia-se na reação de dois ftalonitrilos diferentes resultando numa mistura de seis compostos diferentes (Figura 30). A desvantagem desta rota de síntese está na necessidade do uso de técnicas cromatográficas eficientes para separar os produtos resultantes da reação. A estequiometria é dos fatores mais determinantes na condensação estatística pois pode ser manipulada de forma a direcionar a reação para uma conversão máxima do derivado A_3B desejado. Considerações estatísticas predizem que dois ftalonitrilos diferentes com reatividades semelhantes na proporção 3:1 levam à formação de uma mistura de produtos com a seguinte percentagem: A_4 (33%), A_3B (44%) e outros produtos (23%). Embora a proporção 3:1 seja a favor da formação de ftalocianinas A_3B , o composto maioritário é

geralmente a ftalocianina simétrica, derivada do precursor mais abundante. O rendimento experimental do composto (A_3B) pretendido ronda os 10 a 15%.¹¹⁵

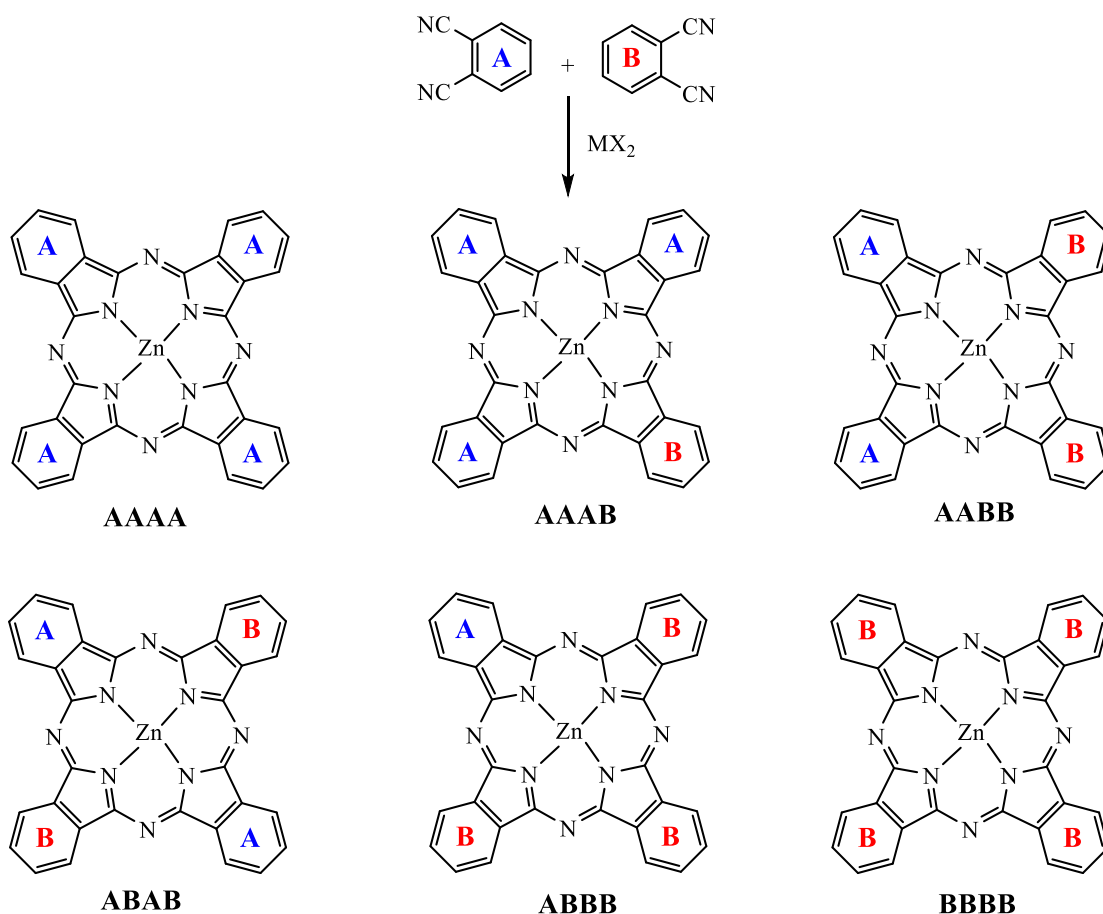


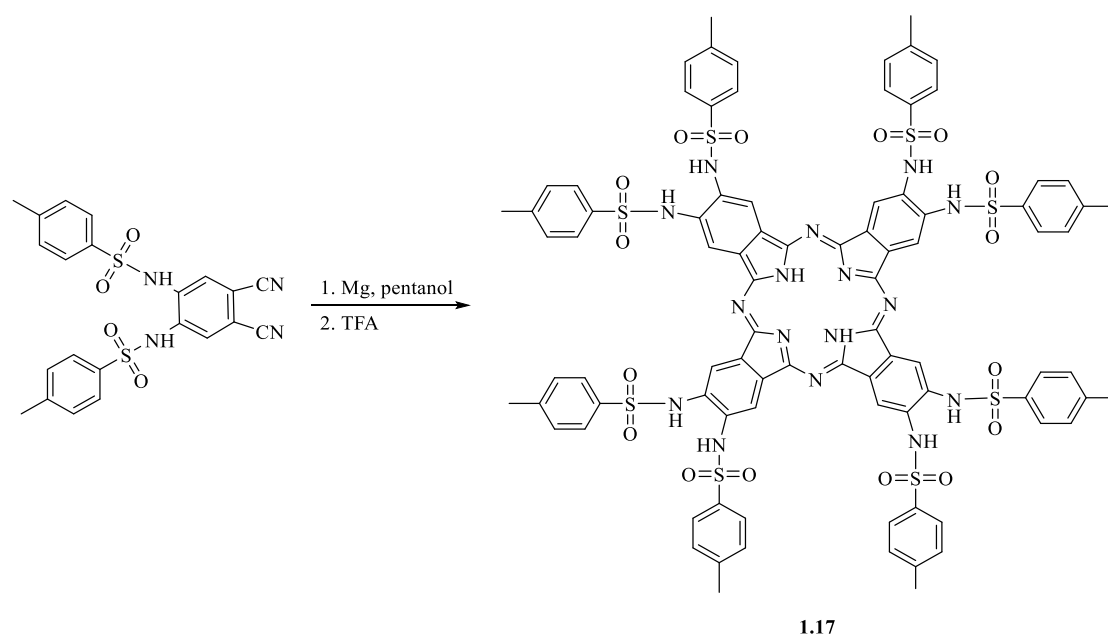
Figura 30 – Estrutura das ftalocianinas obtidas numa reação com mistura de 2 ftalonitrilos diferentes.

O carácter eletrónico ou a posição dos substituintes são fundamentais para determinar a proporção dos produtos obtidos. Assim a estequiometria dos reagentes pode ser modificada conforme a reatividade dos precursores. Por exemplo, para preparar ftalocianinas A_3B pode ter de ser usar proporções bem superiores à 3:1, principalmente quando B é mais reativo que A.

1.4.3 Ftalocianinas como quimiossensores de aniões

Apesar de haver diversos tipos de sensores baseados em ftalocianinas, tais como sensores para metais^{166,172-175} e para gases^{167,176-180}, entre outros, até à data de escrita desta tese apenas um quimiossensor para aniões se encontra reportado na literatura.

Recentemente Farinha *et al.*,⁹⁵ desenvolveram uma ftalocianina contendo oito grupos tosilamino, grupos esses com prótons NH ácidos uma vez que o grupo tosilato é um grupo sacador de elétrons. A ftalocianina **1.17** foi preparada a partir da ciclometalagem do ftalonitrilo correspondente (Esquema 11). Os autores avaliaram a interação entre este quimiossensor e diversos aniões e os testes foram realizados em diversos solventes, tais como CHCl₃, THF, MeOH e DMSO, para se estudar também a interação do solvente com o quimiossensor.



Esquema 11

Usando o método de Job, verificaram que o complexo Pc:anião formado apresenta uma estequiometria 1:2. Para a determinação das constantes de afinidade foram usadas soluções de ftalocianina nos diferentes solventes, todas com a mesma concentração, às quais foram adicionadas alíquotas de aniões e registrados os espectros de UV-Vis (Figura 31).

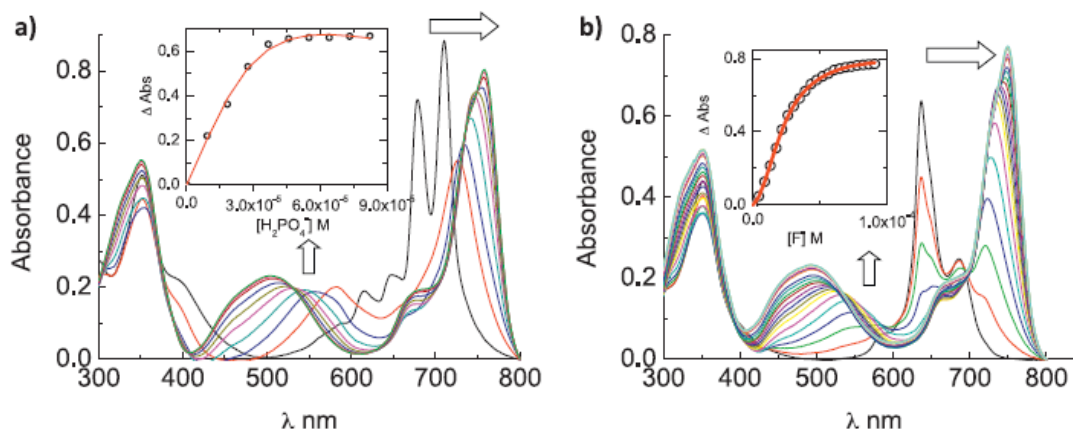


Figura 31 – Alterações registadas no UV-Vis na titulação da ftalocianina **1.17** com: (a) anião di-hidrogenofosfato em THF; (b) anião fluoreto em CHCl_3 . *Insets*: tratamento dos dados experimentais.⁹⁵

Pelos valores das constantes de equilíbrio obtidos conseguiram determinar que o THF é o solvente que menos interage com o quimiossensor sintetizado, permitindo assim obter valores de constantes de afinidade mais elevadas para os diversos aniões estudados. Em contrapartida é com o solvente DMSO, que se obtém valores de constantes de afinidade mais baixos. Foi assim determinado que a ordem de competitividade destes solventes para com a molécula de quimiossensor é $\text{DMSO} > \text{CHCl}_3 > \text{THF}$.

A ftalocianina sintetizada também demonstrou que apresenta uma resposta colorimétrica na presença dos diferentes aniões obtendo assim cores distintas, tal como representado na Figura 32 utilizando THF como solvente.

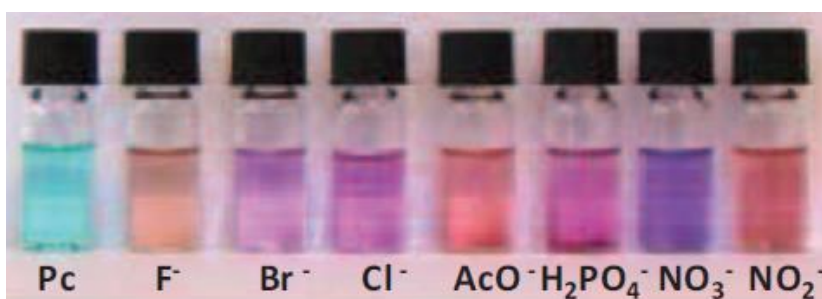


Figura 32 – Alterações de cor da solução da ftalocianina **1.17** na presença dos diferentes aniões em THF.⁹⁵

Os autores demonstraram ainda que a ftalocianina após ser usada como quimiossensor era recuperável e reutilizável de forma reprodutível. Para isso faziam uma lavagem do complexo com água acidificada com TFA e este revertia na totalidade à sua forma inicial, exibindo um espectro de UV-Vis de absorvência idêntica à ftalocianina

livre. A subsequente titulação confirma a sua reutilização mantendo a sua eficiência (Figura 33).

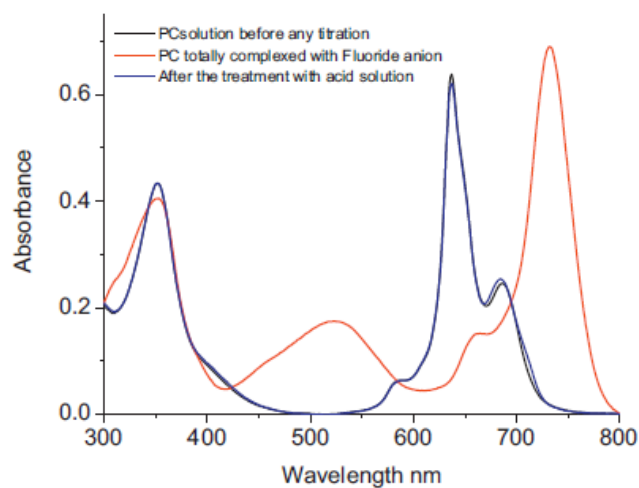


Figura 33 – Espectros UV-Vis da reutilização da ftalocianina como quimiossensor de aniões.⁹⁵

CAPÍTULO II

Síntese de quimiossensores

2 Síntese de quimiossensores

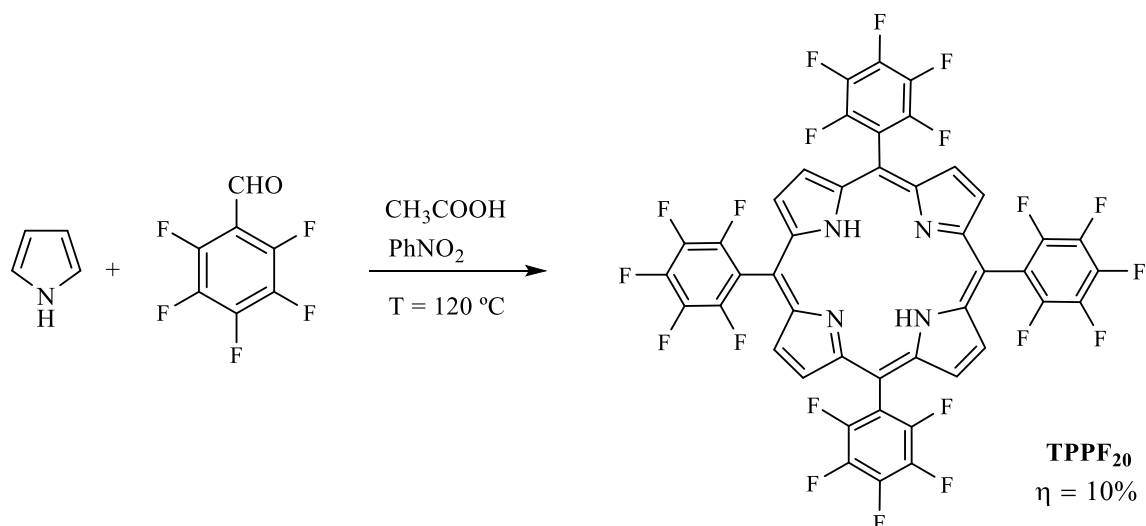
2.1 Síntese de quimiossensores porfirínicos

No capítulo anterior tivemos a oportunidade de descrever algumas rotas de síntese de determinados macrociclos porfirínicos bem como apresentar alguns exemplos de quimiossensores de aniões. Partindo do conhecimento de que as porfirinas funcionalizadas na periferia com grupos contendo azotos, quando protonadas no seu núcleo interno e/ou funcionalizadas com metal,⁹⁸ têm potencialidade de funcionarem como quimiossensores de aniões,^{140,141,181} foram assim preparados vários derivados porfirínicos contendo grupos amina ou poliamina para serem testadas como quimiossensores de aniões.

Tendo em vista a preparação de derivados porfirínicos com múltiplos grupos amina utilizou-se a 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (**TPPF₂₀**) como porfirina de partida, sendo posteriormente sujeita a reações de substituições nucleofílica aromática com diversas aminas. Esta porfirina encontra-se disponível comercialmente e pode ser sintetizada em quantidades na ordem do grama, usando os procedimentos descritos por Adler,¹¹⁰ Lindsey¹¹³ ou Gonsalves¹¹⁴ sendo também possível a sua síntese por micro-ondas.¹¹⁷ A **TPPF₂₀** foi selecionada como porfirina base, pois o átomo de flúor na posição *para* dos seus grupos *meso*-arilo é facilmente substituído por nucleófilos, sendo este tipo de reações bastante seletivas e com rendimentos elevados.¹⁸²

2.1.1 Síntese da 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (**TPPF₂₀**)

A **TPPF₂₀** foi preparada segundo a metodologia publicada por Gonsalves e colaboradores¹¹⁴ que consiste na condensação de pirrol com o pentafluorobenzaldeído (Esquema 12). A condensação foi levada a cabo numa mistura de ácido acético e nitrobenzeno em refluxo durante uma hora. Procedeu-se de seguida à destilação a pressão reduzida, até à secura, da mistura de solventes. O resíduo foi lavado com hexano e, após a lavagem, sujeito a cromatografia de coluna utilizando sílica como fase estacionária e uma mistura hexano/diclorometano (3:1) como eluente, tendo-se obtido uma primeira fração que foi identificada como sendo a porfirina **TPPF₂₀** com um rendimento de 10%. Os dados espectroscópicos de UV-Vis, RMN ¹H e ¹⁹F e EM confirmaram ser esta a porfirina obtida.



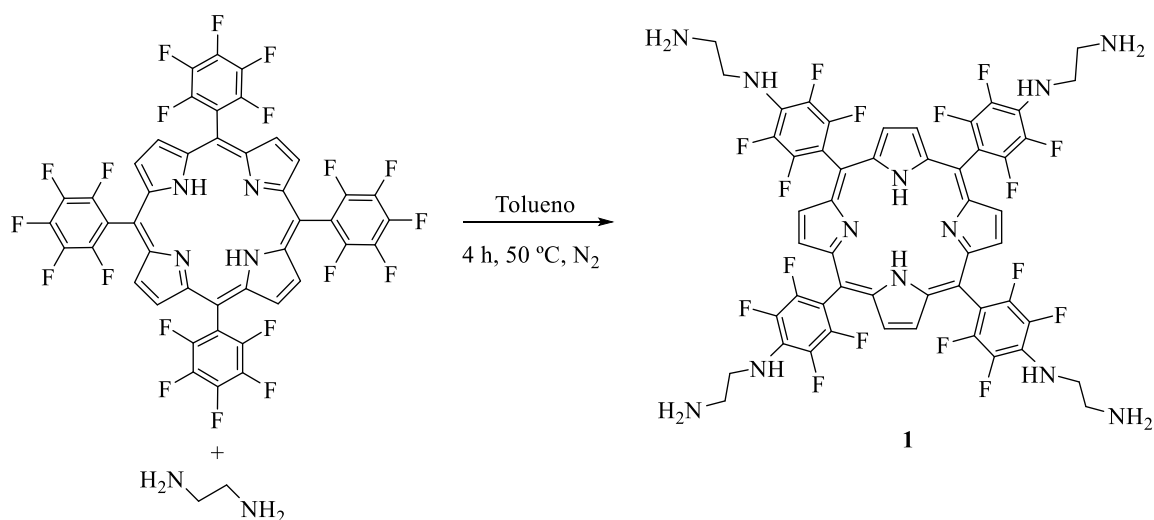
Esquema 12

No espectro de UV-Vis a formação da porfirina foi confirmada pela banda Soret observada a 413 nm. A análise do espectro de RMN de ^1H permite observar apenas dois sinais em forma de singuleto característicos de uma estrutura altamente simétrica. Um dos sinais é observado a δ 8,92 ppm, desvio químico característico da ressonância de prótons aromáticos e com uma integração de 8 prótons – os prótons β -pirrólicos. Estes prótons encontram-se bastante desprotegidos devido à corrente do anel. O outro sinal em forma de singuleto surge a δ -2,92 ppm, gerado pela ressonância de 2 prótons – os prótons NH. Estes prótons estão mais protegidos que os prótons do TMS, facto que se deve à forte blindagem a que estão sujeitos devido ao efeito anisotrópico do anel porfirínico. Confirma-se portanto, o chamado efeito anisotrópico (a mesma corrente eletrónica desprotege os prótons exteriores do macrociclo e protege os prótons no interior do macrociclo) observado por muitas moléculas aromáticas, incluindo as porfirinas. No espectro de RMN de ^{19}F aparecem três sinais: um sinal em forma de duplo duplete (δ -160,1 ppm), um na forma de tripleto (-174,7 ppm) e outro na forma de multiplete (δ -184,9 ppm). O sinal em forma de duplo duplete ($J = 24,5$ e $7,4$ Hz) corresponde à ressonância dos 8 átomos de flúor na posição *orto*. O sinal em forma de tripleto ($J = 20,8$ Hz) é atribuído à ressonância dos 4 átomos de flúor na posição *para*. A multiplicidade deste sinal é devida ao acoplamento com os 2 átomos de flúor na posição *meta*. Finalmente o sinal em forma de multiplete, corresponde aos 8 átomos de flúor na posição *meta*. A estrutura do composto foi ainda confirmada por EM, onde o espectro apresenta um pico com uma razão m/z de 975,0 correspondente ao ião molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2.1.2 Síntese de derivados porfirínicos por reação da TPPF₂₀ com diferentes diaminas

Tendo como objetivo a preparação de uma serie de porfirinas com múltiplos grupos amina, foram selecionados diferentes diaminas de custo reduzido para serem utilizadas nas reações de substituição nucleofílica aromática dos átomos de flúor das posições *para* dos grupos pentafluorofenilo da TPPF₂₀. As diaminas escolhidas foram a: etilenodiamina, *N*-tosiletilenodiamina e *N*-isopropiletilenodiamina.

Assim, numa primeira tentativa de obter o primeiro quimiossensor, fez-se reagir a TPPF₂₀ com um excesso de etilenodiamina em tolueno, previamente seco em fio de sódio, a 50 °C em atmosfera de azoto durante 4 horas, no fim das quais se observou por cromatografia em camada fina (TLC) o consumo total da porfirina de partida (Esquema 13).



Esquema 13

A mistura reacional foi extraída com uma mistura de clorofórmio/metanol (85:15), seca em sulfato de sódio anidro e evaporada à secura com o auxílio de um evaporador rotativo. Após a extração o novo derivado **1** foi cristalizado usando uma mistura de metanol/água tendo sido obtido com 81% de rendimento. O produto **1** foi caracterizado por espectroscopia de UV-Vis, RMN de ¹H e ¹⁹F e por EM. O espectro de RMN de ¹H do composto **1** (Figura 34) apresenta um sinal em forma de singuleto a δ -3,13 ppm que corresponde à ressonância dos prótons dos NH internos da porfirina. Na zona alifática do espectro temos dois sinais, um em forma de tripleto a δ 2,96 ppm (*J* = 6,2 Hz) correspondente à ressonância dos prótons de um dos grupos CH₂ e outro em forma de quarteto (*J* = 6,2 Hz)

a δ 3,60 ppm referente à ressonância dos prótons do outro CH₂ do grupo etileno. A δ 6,44 ppm há um sinal em forma de singuleto largo referente à ressonância dos prótons do grupo NH e finalmente a δ 9,23 ppm temos um singuleto referente à ressonância dos prótons β -pirrólicos.

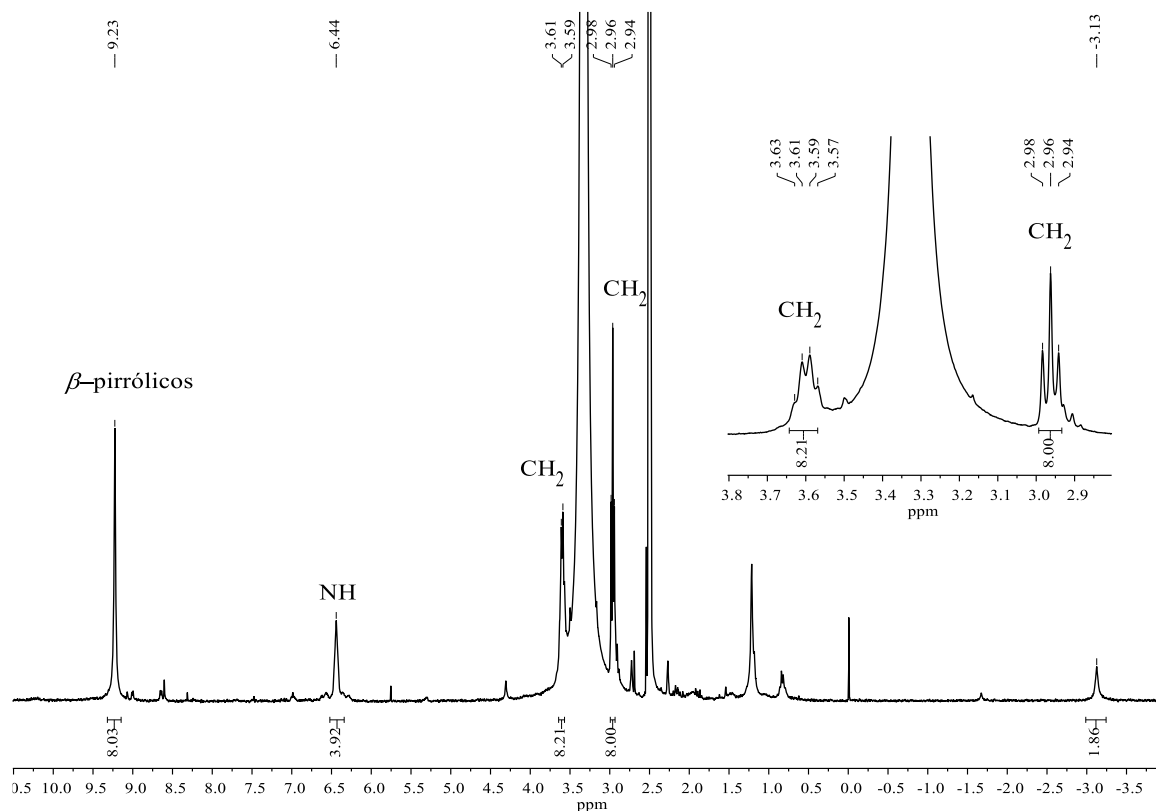


Figura 34 – Espetro de RMN de ¹H do composto **1** em DMSO-*d*₆.

A tetra-substituição do macrociclo foi também confirmada pela análise do espectro de RMN de ¹⁹F uma vez que se observam apenas dois sinais. Um sinal na forma de tripleto a δ -166,63 ppm (J = 18,7 Hz) correspondente à ressonância dos oito átomos de flúor da posição *orto* (*o*-F) e um sinal na forma de duplete a δ -184,34 ppm (J = 18,7 Hz) referente à ressonância dos oito átomos de flúor da posição *meta* (*m*-F). A ausência do sinal correspondente à ressonância dos átomos de flúor na posição *para* (*p*-F) confirma assim também a tetra-substituição da **TPPF**₂₀ (Figura 35).

A estrutura do composto foi ainda confirmada por HRMS-ESI onde o espectro apresenta um pico com uma razão m/z de 1135,31798 correspondente ao ião molecular $[M+H]^+$.

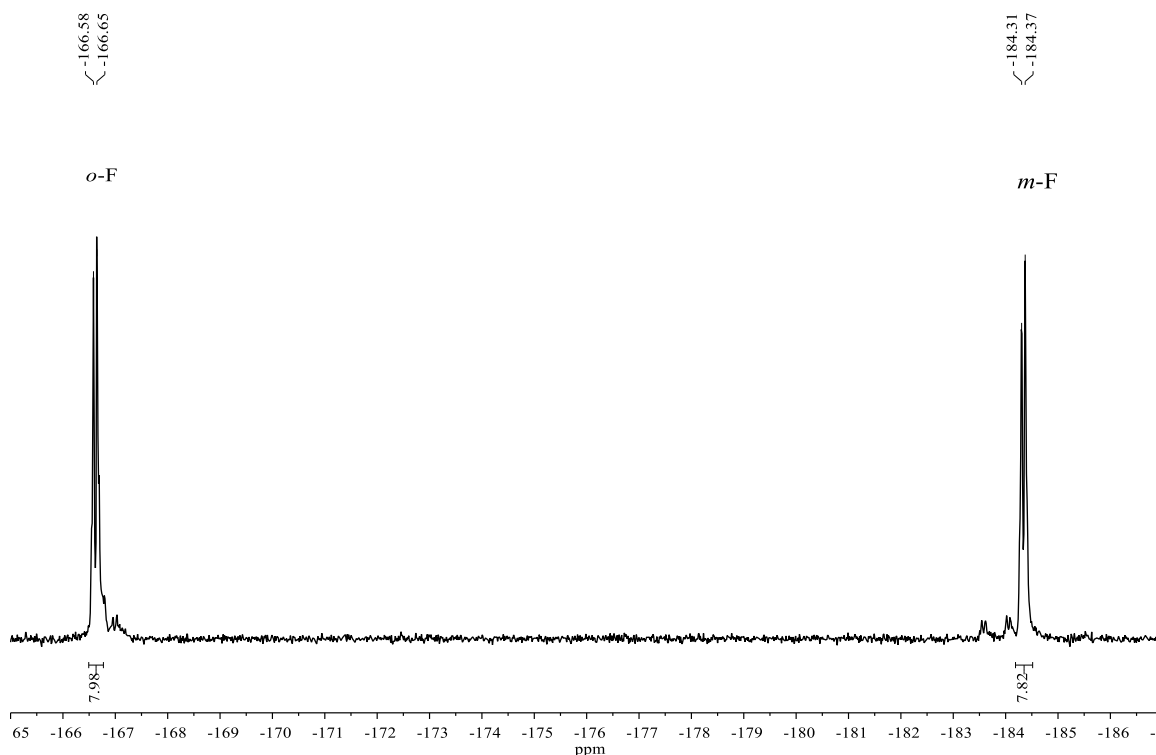
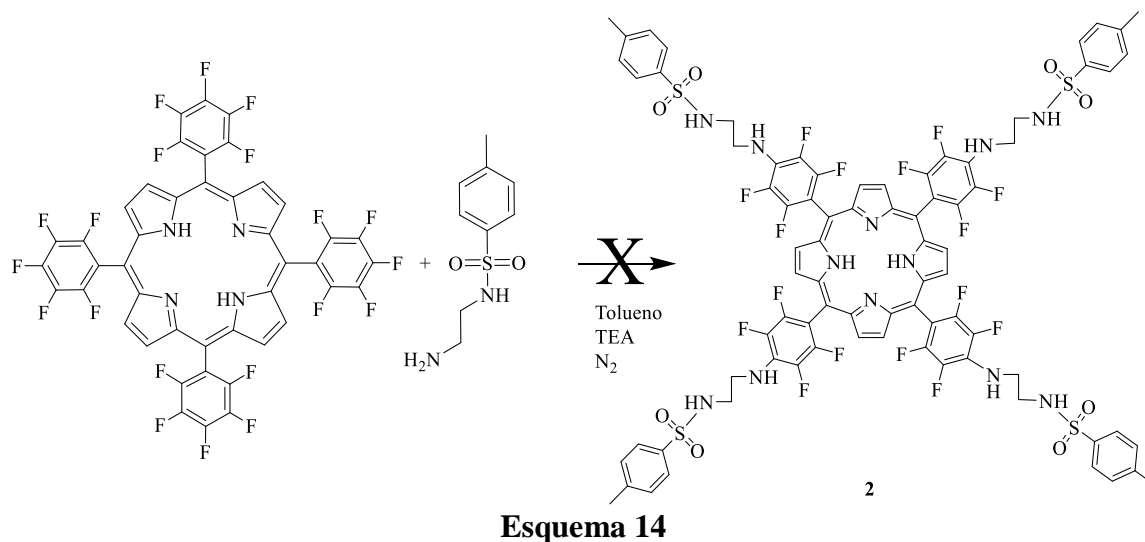


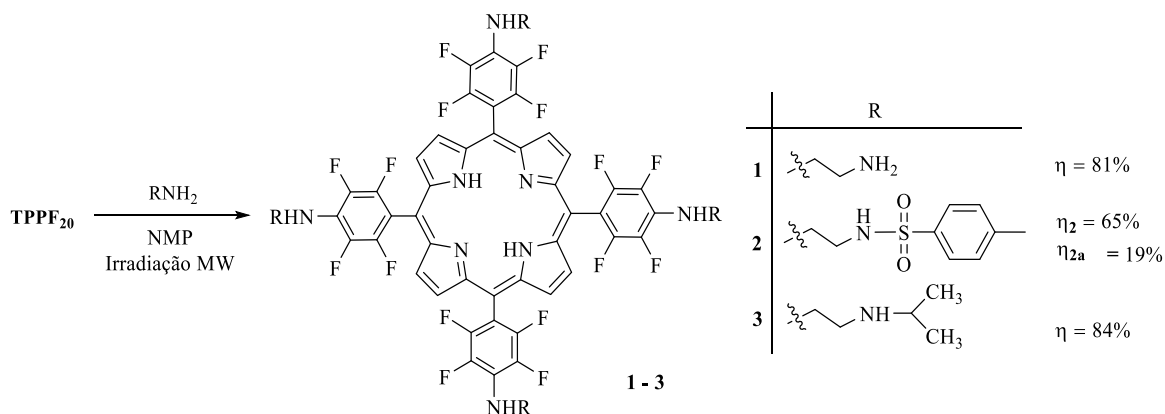
Figura 35 – Espetro de RMN de ^{19}F do composto **1** em $\text{DMSO-}d_6$.

Procedeu-se então à reação da **TPPF₂₀** com *N*-tosiletenodiamina nas mesmas condições descritas anteriormente, tendo-se no entanto verificado diversas dificuldades. Nas várias tentativas efetuadas era evidente que a porfirina de partida não era consumida totalmente, mesmo aumentando a temperatura e o tempo de reação, verificando-se uma grande degradação dos reagentes presentes na mistura reacional e uma grande dificuldade de purificação dos compostos obtidos (Esquema 14). Por esse facto optou-se por uma abordagem diferente em vez de se fazer a reação de acoplamento em condições clássicas, decidiu-se utilizar radiação micro-ondas.¹⁸³



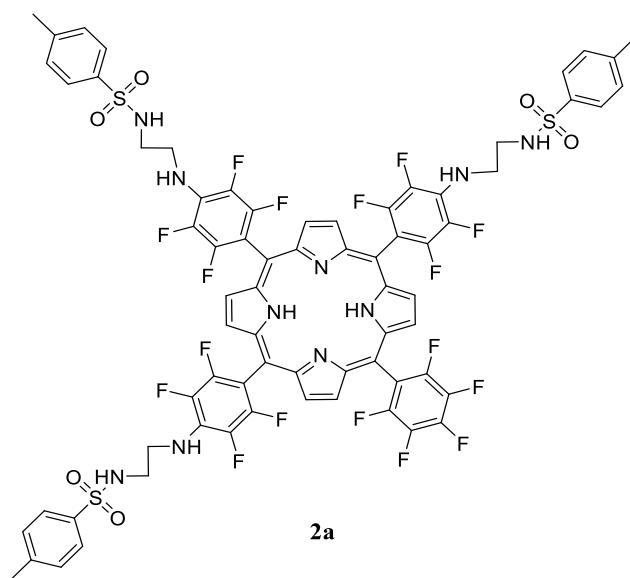
Através de um método de radiação micro-ondas, reportado por Drain e colaboradores, foi possível obter derivados da **TPPF₂₀** com aminas primárias de forma bastante eficiente e rápida, e com rendimentos entre 70 e 95%.¹⁸³ Neste tipo de reação usaram um excesso de equivalentes de amina (10 equiv.), excesso esse que serviu também de base para neutralizar o ácido formado durante a reação. Assim, seguindo este procedimento, utilizou-se um reator de vidro fechado, onde foi colocada a porfirina **TPPF₂₀** com 10 equiv. de amina e a *N*-metil-2-pirrolidona (NMP) como solvente da reação. As condições de radiação micro-ondas para realizar as reações as condições utilizadas foram uma potência de 800 W até se obter a temperatura de 200 °C, ou seja, atingida essa temperatura a radiação para e só volta a ser ativada para se manter no máximo essa temperatura. Para acompanhar a evolução da reação, fizeram-se vários ciclos de 3 minutos até se obter a tetra-substituição do nosso material de partida, sendo verificado o consumo do material de partida por TLC. Foi possível observar na maioria dos casos, um consumo total do composto de partida no primeiro ciclo de 3 minutos.

A síntese dos derivados porfirínicos **1-3** (Esquema 15) foi então realizada em condições de radiação micro-ondas.⁷⁸ A primeira reação efetuada foi novamente com a **TPPF₂₀** e a etilenodiamina para estudar as diferenças entre condições clássicas e micro-ondas. A reação fez-se igualmente num reator de vidro fechado no qual se juntou a **TPPF₂₀** com um excesso de etilenodiamina (10 equiv.) em NMP. Ao fim de 3 ciclos de 3 minutos obteve-se a porfirina tetra-substituída **1**.

**Esquema 15**

No final da reação, após o arrefecimento do reator, o solvente da reação foi removido por corrente de azoto. A mistura reacional foi lavada com H_2O e extraída com uma mistura de diclorometano/metanol (85:15), seca em sulfato de sódio anidro e evaporada até à secura com o auxílio de um evaporador rotativo. O derivado **1** foi cristalizado usando uma mistura de metanol/água tendo sido obtido com 81% de rendimento.

A reação da **TPPF₂₀** com a *N*-tosiletilenodiamina fez-se nas mesmas condições reportadas anteriormente mas com 4 ciclos de 3 minutos resultando na formação da porfirina tetra-substituída **2** e na formação da porfirina tri-substituída **2a** (Figura 36).

**Figura 36** – Estrutura do composto **2a**.

Uma vez que o objetivo era a preparação da porfirina tetra substituída **2**, tentou-se forçar a reação aumentando o número de ciclos de radiação e adicionando mais equivalentes,

passando de 10 para 14 equivalentes. Estas tentativas no entanto não levaram ao aumento do rendimento do derivado **2**, obtendo-se sempre também o composto **2a** (Tabela 2).

Tabela 2 – Número de ciclos e substituições para a obtenção do composto **2** e **2a**.

Nº ciclos	Substituições			
	Mono	Di	Tri (2a)	Tetra (2)
1	x	x	x	x
2		x	x	x
3		x	x	x
4			x	x
5			x	x

Assim, após ser removido o solvente da reação por corrente de azoto, a mistura reacional foi lavada com água e extraída com uma mistura de diclorometano/metanol (90:10), seca em sulfato de sódio anidro e evaporada à secua com o auxílio de um evaporador rotativo.

Os compostos foram isolados por cromatografia de coluna em sílica gel, usando uma mistura de diclorometano/metanol (95:5) como eluente obtendo-se uma primeira fração que foi identificada como o derivado **2a** (Figura 36) e uma segunda tratando-se do derivado **2**. Após purificação, os novos derivados **2** e **2a** foram cristalizados usando uma mistura de diclorometano/hexano tendo sido obtidos com 64% e 19% de rendimento, respetivamente.

Para o composto **2** o espectro de massa de HRMS-ESI apresenta o ião molecular m/z 1751,35098 correspondente a $[M+H]^+$ e o ião molecular m/z 876,17862 correspondente a $[M+2H]^{2+}$. O espectro de RMN de 1H (Figura 37), além dos sinais característicos apresentados anteriormente para o derivado **1**, o composto **2** apresenta mais alguns sinais, nomeadamente os dos grupos tosilo introduzidos. Assim podemos encontrar a δ 2,36 ppm um sinal em forma de singuleto correspondente à ressonância dos 12 prótons CH_3 dos grupos tosilo. Na zona aromática do espectro encontramos dois dupletos a δ 7,47 ppm ($J = 8,2$ Hz) e a δ 7,81 ppm ($J = 8,2$ Hz) correspondentes à ressonância dos 8 prótons *orto* e dos 8 prótons *meta* do grupo tosilo, respetivamente. Na zona aromática está também um sinal em forma de tripleto a δ 7,90 ppm ($J = 5,9$ Hz) correspondente à ressonância dos 4 prótons NH tosilo. A tetra-substituição do macrociclo foi também confirmada pela análise do espectro de RMN de ^{19}F uma vez não se observa nenhum sinal correspondente à ressonância de átomos de flúor na posição *para* (*p*-F).

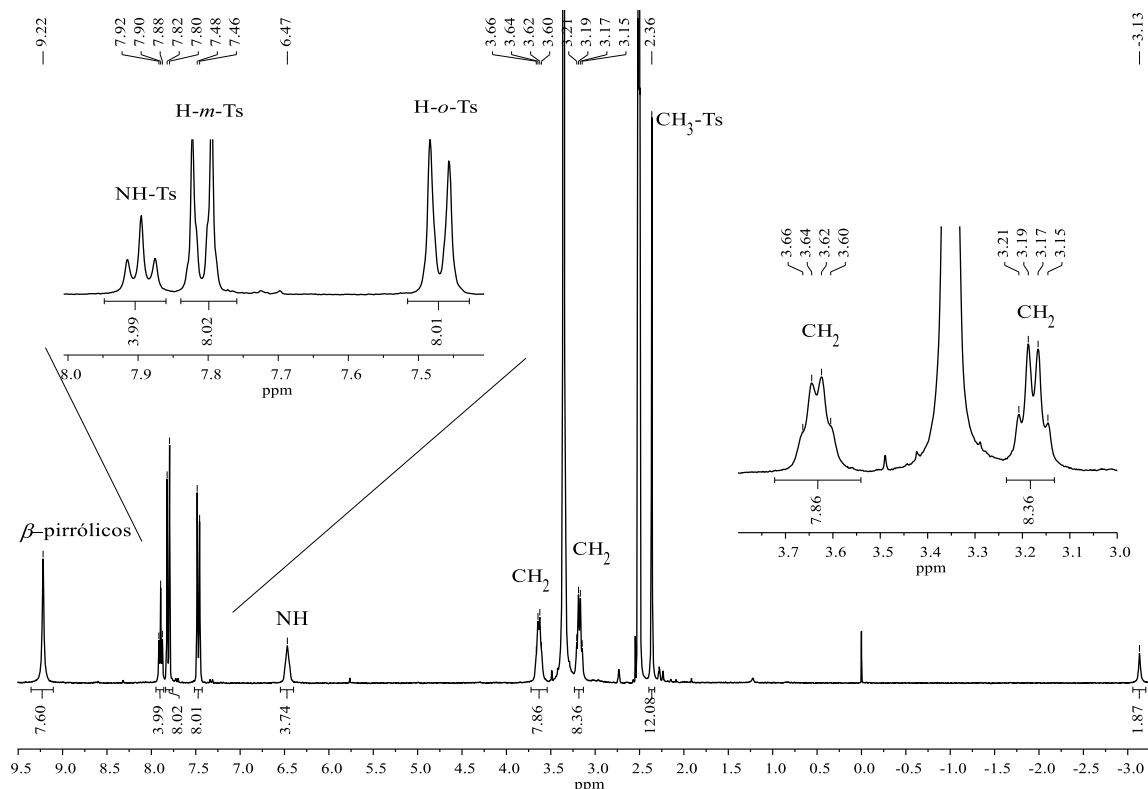


Figura 37 – Espectro de RMN de ^1H do composto **2** em $\text{DMSO}-d_6$.

O derivado **2a** apresenta no espectro de massa de HRMS-ESI o i6o molecular m/z 1557,25872 correspondente a $[\text{M}+\text{H}]^+$. O espectro de RMN de ^1H 6 semelhanate ao derivado **2** em que apenas difere na integra66o de alguns sinais como se pode ver na Figura 38. Na zona alif6tica do espectro podemos encontrar um sinal em forma de singuleto a δ 2,37 ppm correspondente 6 resson6ncia dos 9 prot6es CH_3 do grupo tosilo, a δ 3,18 ppm um sinal em forma de quarteto ($J = 6,1$ Hz) correspondente 6 resson6ncia dos prot6es de um dos grupos CH_2 e a δ 3,64 ppm um outro sinal em forma de quarteto ($J = 6,1$ Hz) correspondente 6 resson6ncia dos prot6es do outro grupo CH_2 do grupo etileno. Na zona arom6tica aparecem dois sinais referentes 6 resson6ncia dos 3 prot6es NH e dos 3 prot6es NH tosilo, um singuleto largo e um triplete ($J = 6,1$ Hz), a δ 6,48 e a δ 7,90 ppm, respetivamente. Ainda na zona arom6tica, a δ 7,47 e a δ 7,81 ppm, observam-se dois sinais em forma de duplete ($J = 8,2$ Hz) correspondente 6 resson6ncia dos 6 prot6es *orto* e *meta*, respetivamente, dos grupos tosilo.

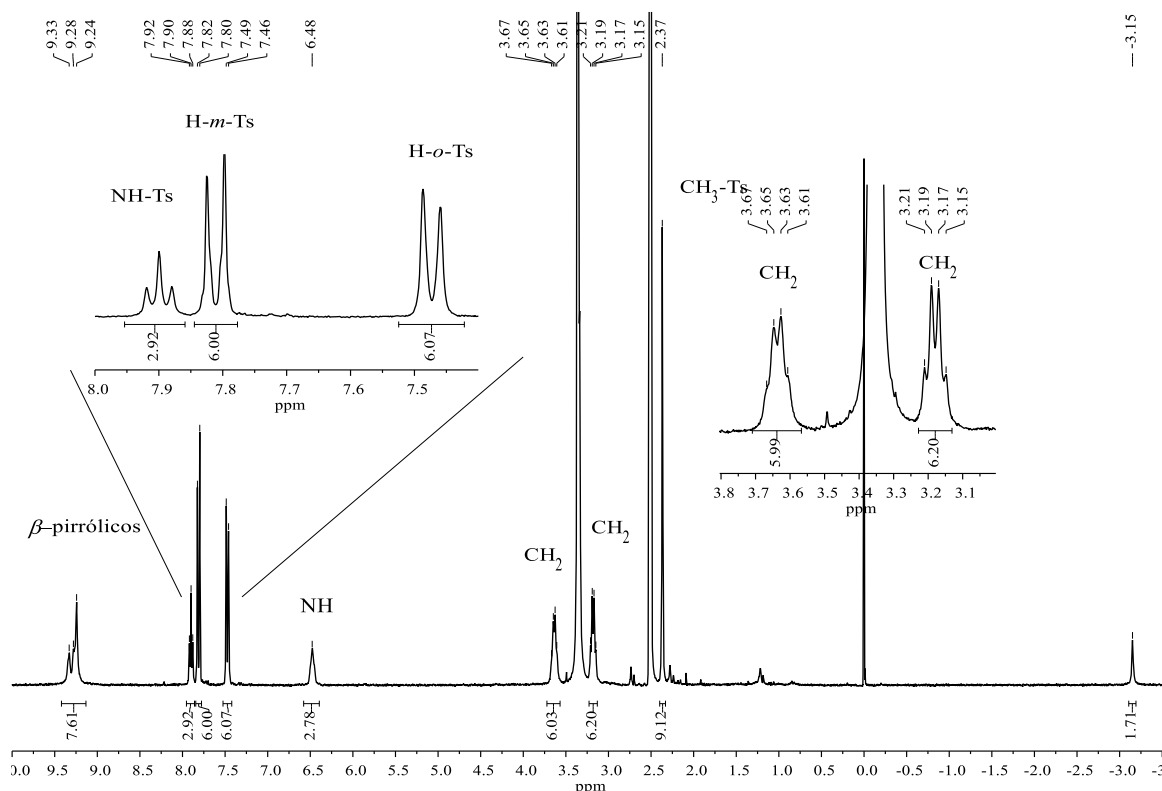


Figura 38 – Espetro de RMN de ^1H do composto **2a** em $\text{DMSO-}d_6$.

A tri-substituição do macrociclo foi também facilmente confirmada pela análise do espectro de RMN de ^{19}F (Figura 39) uma vez que se observam dois sinais devidos à ressonância dos átomos de flúor na posição *orto* (*o*-F), dois sinais devidos à ressonância dos átomos de flúor na posição *meta* (*m*-F) e um sinal devido à ressonância do átomo de flúor na posição *para* (*p*-F). No caso dos sinais relativos aos átomos *o*-F, observa-se a presença de um duplo duplete a δ -163,02 ppm com uma integração correspondente a 2 átomos de flúor ($J = 26,4$ e $5,3$ Hz) do anel fenílico não substituído e um duplete a δ -166,67 ppm com uma integração correspondente a 6 átomos de flúor ($J = 18,4$ Hz) relativamente ao anel fenílico substituído. No caso dos sinais correspondentes aos átomos *m*-F, observa-se a presença de um multipeto a δ -183,66 – -183,77 ppm com uma integração correspondente a 6 átomos de flúor do anel fenílico substituído e um multipeto a δ -186,24 – -186,41 ppm com uma integração correspondente a 2 átomos de flúor relativamente ao anel fenílico não substituído. Finalmente a δ -177,51 ppm temos um sinal com forma de tripleto ($J = 22,4$ Hz) com uma integração correspondente ao átomo de flúor não substituído.

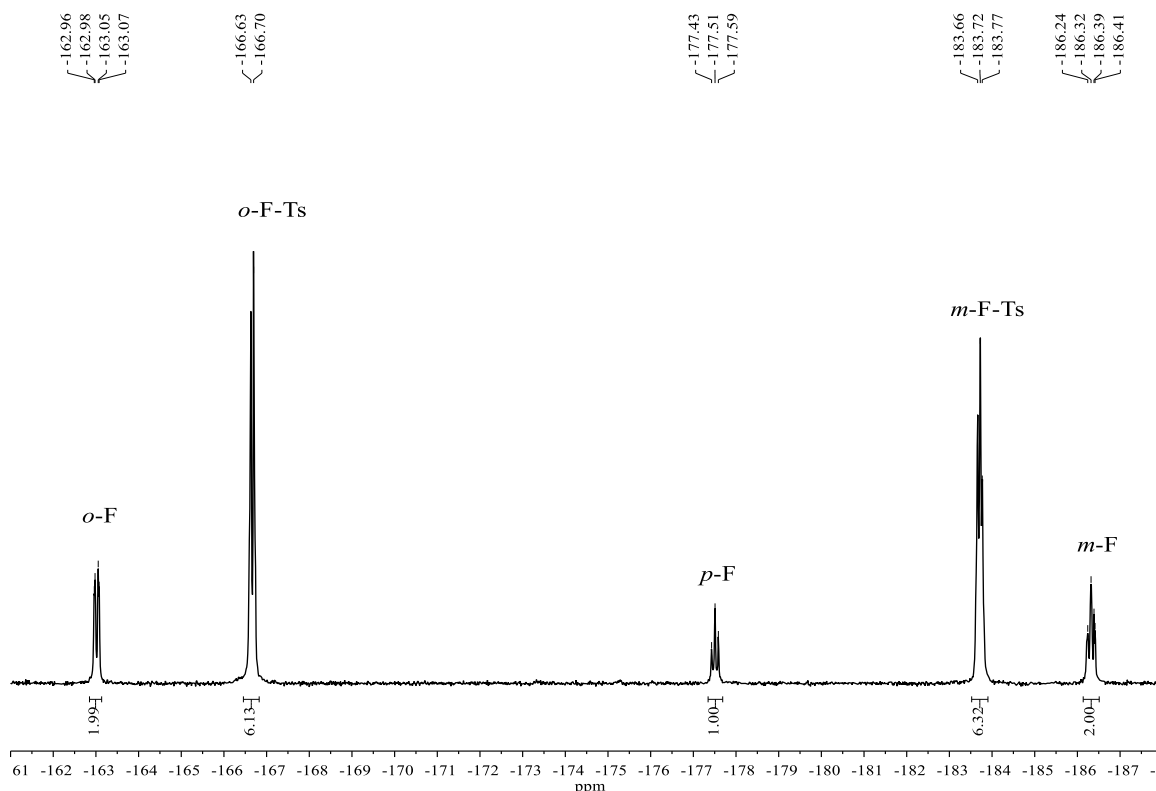


Figura 39 – Espetro de RMN de ^{19}F do composto **2a** em $\text{DMSO-}d_6$.

No caso da *N*-isopropiletilenodiamina, as condições de reação são semelhantes as anteriormente reportadas sendo o tempo de reação 5 ciclos de 3 minutos. Após o final da mesma, removeu-se o solvente por corrente de azoto e a mistura reacional foi lavada com água e extraída com uma mistura diclorometano/metanol (90:15), seca através de sulfato de sódio anidro e evaporada à secura com o auxílio de um evaporador rotativo. O composto **3** foi cristalizado usando uma mistura de diclorometano/metanol tendo sido obtido com 84% de rendimento. O espectro de massa efetuado em HRMS-ESI apresenta o ião molecular m/z 1303,50377 correspondente a $[\text{M}+\text{H}]^+$. Pela análise do espectro RMN de ^1H (Figura 40), não foi possível identificar os prótons do grupo CH, muito provavelmente por o sinal referente à referência destes estarem sobreposto ao sinal da água. É possível observar além dos sinais característicos apresentados anteriormente para o derivado **1**, um duplete a δ 1,17 ppm ($J = 6,3$ Hz) correspondente à ressonância dos 24 prótons CH_3 e um singuleto largo a δ 6,49 ppm correspondente à ressonância dos 4 prótons NH fenilo. A tetra-substituição do macrociclo foi também confirmada pela análise do espectro de RMN de ^{19}F , onde uma vez mais não se observou nenhum sinal correspondente à ressonância dos átomos de flúor na posição *para* (*p*-F).

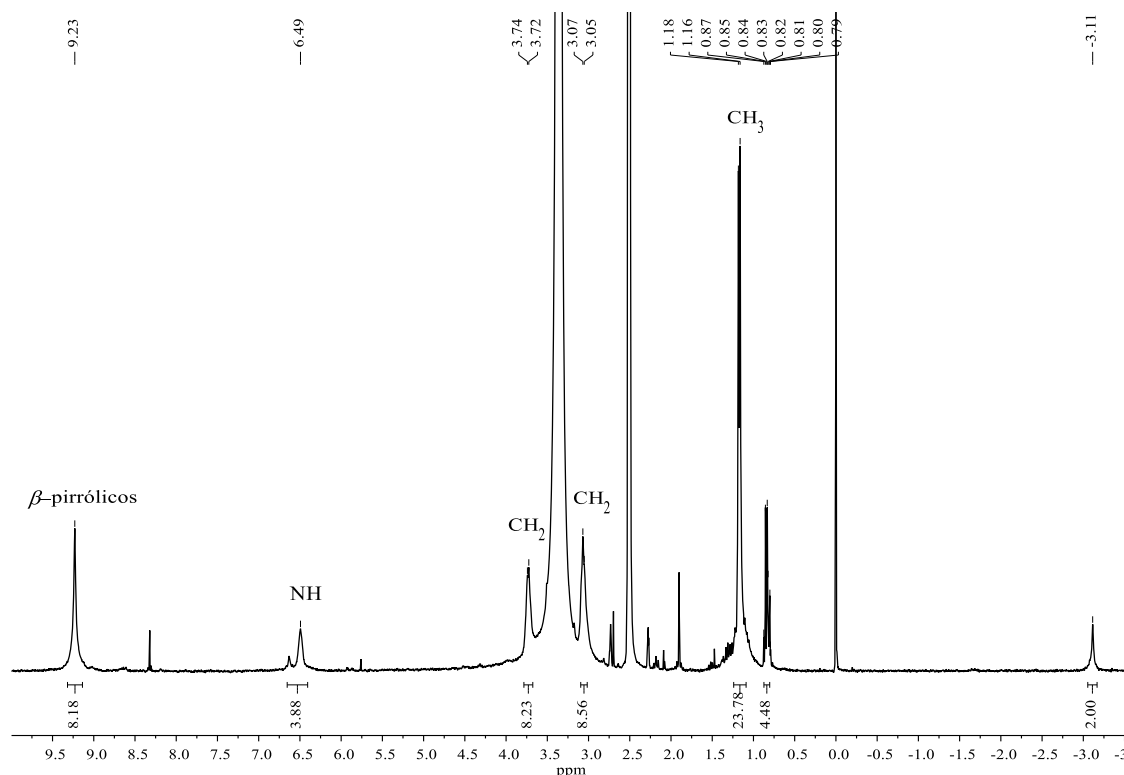
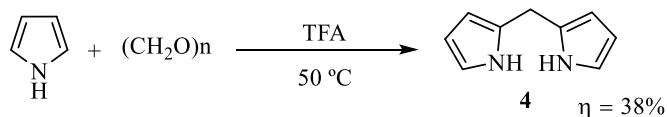


Figura 40 – Espetro de RMN de ^1H do composto **3** em $\text{DMSO-}d_6$.

2.1.3 Síntese de derivados porfirínicos dissustituídos

Depois de preparados uma série de compostos a partir da porfirimina de partida **TPPF₂₀** procedeu-se à síntese de uma nova família de derivados porfirínicos obtidos por reação de dipirrometanos. O objetivo desta rota de síntese é a obtenção de porfirinas 5,15-di-sustituídas que posteriormente serão funcionalizadas nas posições *meso* com diferentes aminas para assim se obterem novos quimiossensores de aniões com recetores diretamente ligados/acoplados ao macrociclo porfirínico. Com isso espera-se observar uma maior influência na distribuição eletrónica aquando da formação de complexos Por:anião.

Assim, a nossa nova estratégia iniciou-se com a síntese do dipirrometano e posterior funcionalização das porfirinas precursoras. Começou-se assim pela reação entre formaldeído e excesso de pirrol na presença de TFA para a obtenção do dipirrometano **4** (Esquema 16).¹⁸⁴ A reação de formação deste dipirrometano não substituído na posição *meso* foi um passo difícil, uma vez que estes dipirrometanos são muito instáveis.



Esquema 16

Ao fim de 5 minutos de reação, verificou-se uma mudança da cor da reação para uma cor escura e que já não se formava mais dipirrometano (mancha cor de rosa na cromatografia em camada fina) e por isso deu-se a reação por terminada. Em seguida adicionou-se acetato de etilo à mistura e neutralizou-se a mesma com uma solução aquosa de NaOH. Extraíu-se a fase orgânica e esta foi evaporada no evaporador rotativo à temperatura ambiente. O pirrol em excesso foi também evaporado no evaporador rotativo e recuperado. No final obteve-se um resíduo preto e oleoso que foi purificado numa coluna de sílica gel usando uma mistura de diclorometano/hexano (1:2) com 1% de trietilamina obtendo o dipirrometano **4** com um rendimento de 38%. O dipirrometano **4** foi caracterizado por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C e por EM. O espectro de RMN de ^1H do composto **4** (Figura 41) apresenta na zona alifática um sinal em forma de singuleto a δ 3,95 ppm que corresponde à ressonância dos prótons H-5. Na zona aromática a δ 6,01-6,05 ppm temos um sinal em forma de multipletto que integra para dois prótons referentes à ressonância dos prótons H-3. A δ 6,15 ppm e a δ 6,64 ppm temos dois sinais em forma de duplo duplete ($J = 5,5$ e $2,5$ Hz) referentes à ressonância dos prótons H-2 e H-1, respetivamente. Finalmente a δ 7,79 ppm temos um sinal em forma de singuleto referentes à ressonância dos prótons NH. O espectro de massa efetuado em ESI-TOF apresenta o ião molecular m/z 185,1 correspondente a $[\text{M}+\text{K}]^+$.

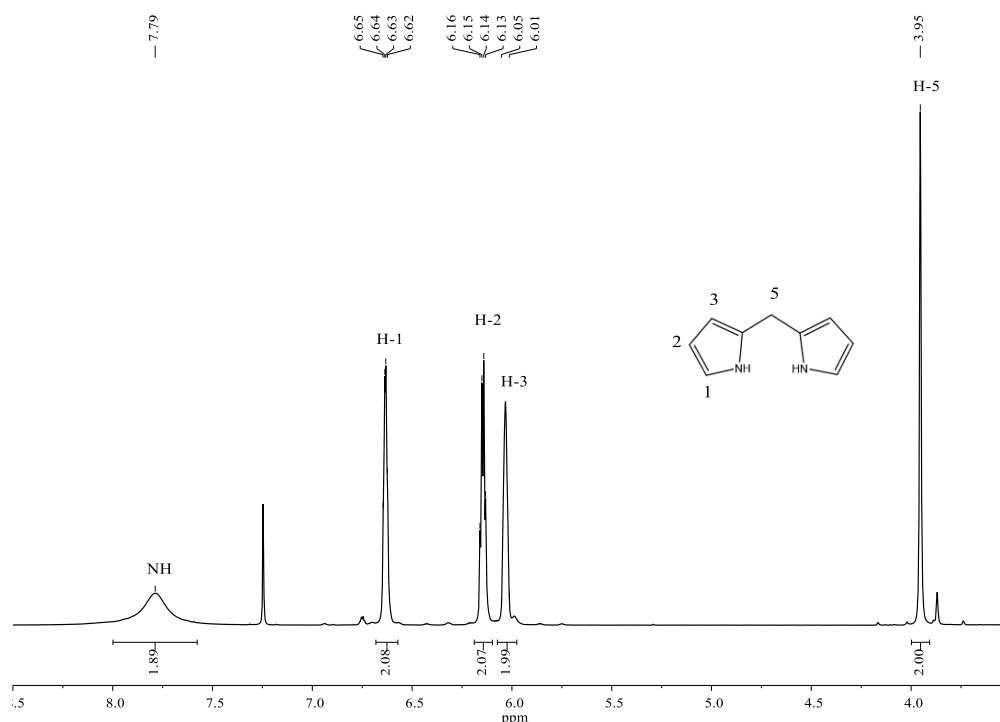
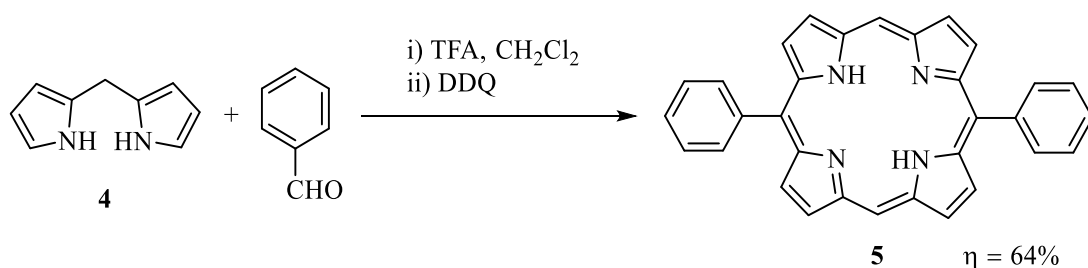


Figura 41 – Espectro de RMN de ^1H do composto **4** em CDCl_3 .

Após caracterização do dipirrometano **4**, partiu-se para a síntese da porfirina 5,15-disubstituída.¹⁸⁵ O dipirrometano **4** foi dissolvido em diclorometano, adicionou-se o benzaldeído e o TFA e deixou-se a agitar à temperatura ambiente, protegido da luz, durante três horas. Procedeu-se à oxidação do porfirinogénio com DDQ deixando-se a reação sob agitação durante mais 30 minutos, tendo-se seguido o evoluir da mesma por UV-Vis e por TLC. Terminada a oxidação lavou-se a mistura reacional com uma solução saturada de carbonato de potássio. Após extração com diclorometano purificou-se a mistura reacional numa coluna de sílica gel usando uma mistura diclorometano/hexano (1:1) obtendo a 5,15-difenilporfirina **5** com um rendimento de 64% (Esquema 17).



Esquema 17

A porfirina **5** foi caracterizada por espectroscopia de UV-Vis, RMN de ¹H e por EM. O espectro de UV-Vis do composto obtido apresenta uma forma típica de porfirina livre. Quanto ao espectro de massa, este apresenta um pico a m/z 463,2 ($M+H$)⁺ confirmando a sua estrutura. Relativamente ao espectro de RMN de ¹H, há a destacar o sinal em forma de singuleto a δ -3,12 ppm devido à ressonância dos dois prótons NH que se encontram no interior do núcleo porfirínico. Na zona aromática do espectro, há a referir dois sinais em forma de multiplete, um que integra para seis prótons referentes aos prótons *meta* e *para* e outro sinal que integra para quatro prótons referentes aos prótons *orto*. Há ainda dois sinais em forma de duplete ($J = 4,6$ Hz), a δ 9,09 e 9,40 ppm, devido aos prótons β -pirrólicos e um sinal em forma de singuleto (δ 10,32 ppm) devido aos prótons H-10 e H-20 que se encontram muito desprotegidos por influência da corrente de anel do macrociclo porfirínico (Figura 42).

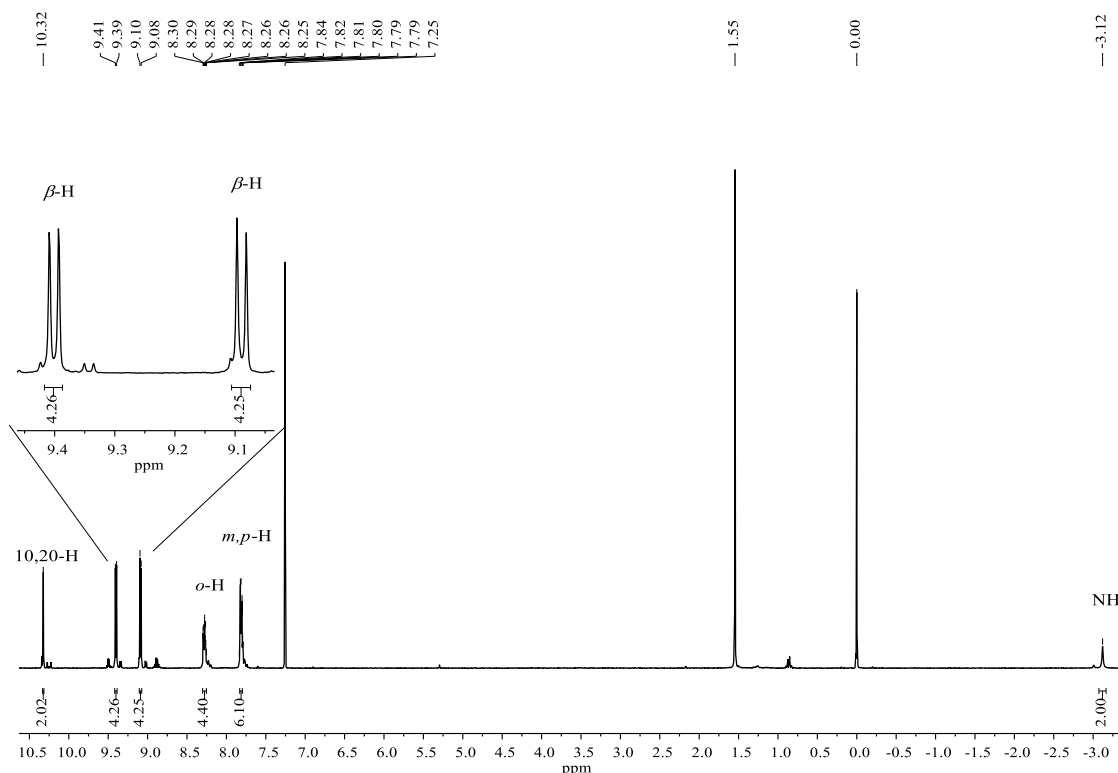
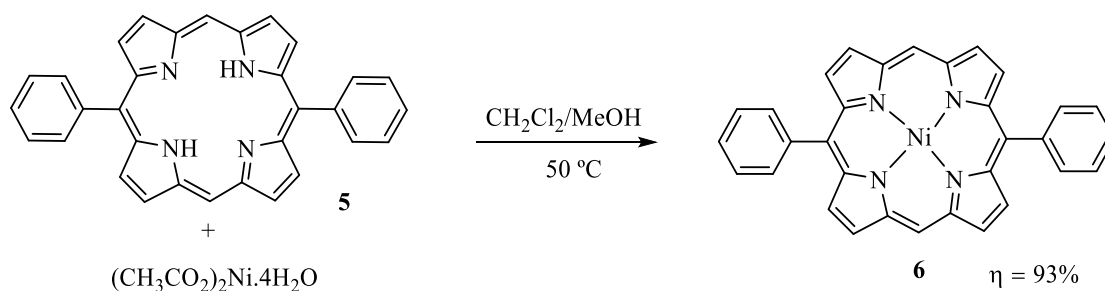


Figura 42 – Espetro de RMN de ^1H do composto **5** em CDCl_3 .

O passo seguinte idealizado foi formular uma das posições *meso* livres do macrociclo seguindo o procedimento descrito na literatura, a formilação de Vilsmeier-Haack.¹⁸⁶ Primeiro foi necessário complexar a porfirina com um ião metálico, tendo-se selecionado o níquel. A presença do ião metálico no interior do macrociclo é importante para orientar a reação de substituição electrofílica para as posições *meso* livres do macrociclo. Desta forma, a síntese do complexo de níquel(II) foi efetuada, sob aquecimento, com acetato de níquel numa mistura de diclorometano/metanol (2:1), como representado no Esquema 18.

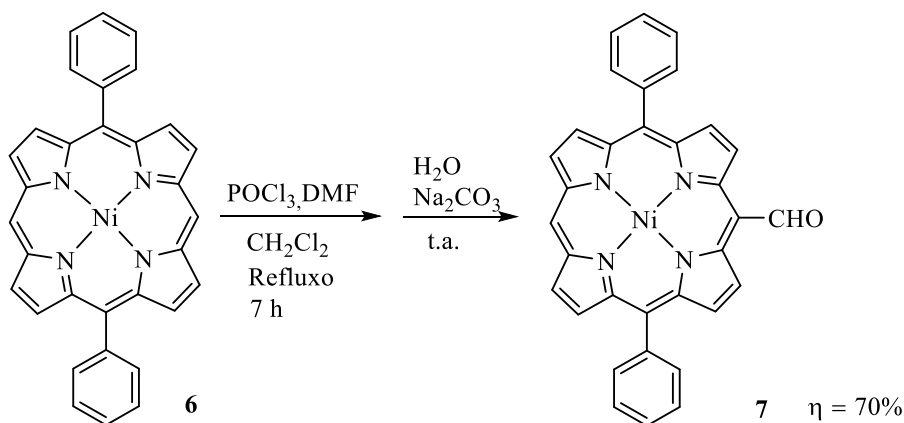


Esquema 18

A reação foi seguida por espectroscopia de UV-Vis e TLC. A estrutura do complexo **6** foi confirmada pelos respetivos espectros de massa (pico a m/z 520,2 devido ao

ião $[M+H]^+$) e RMN. O espectro de RMN de 1H deste complexo apresenta um perfil similar ao apresentado pela porfirina livre **5**, com exceção da ausência de qualquer sinal a valores negativos de desvio químico (indicativo da coordenação entre os átomos de azoto do núcleo porfirínico e o íon Ni^{2+}).

Obtido o complexo de níquel **6**, procedeu-se então à sua formilação em condições de Vilsmeier ($POCl_3/DMF$) (Esquema 19). Para tal procedeu-se à preparação prévia do reagente de Vilsmeier, obtido por reação a $0\text{ }^\circ C$ da DMF com $POCl_3$ em diclorometano durante 30 minutos. A solução vermelha obtida foi imediatamente adicionada a uma mistura do complexo **6** em diclorometano, mantendo-se a mistura obtida, sob atmosfera de azoto e em refluxo durante 7 horas. De seguida, a mistura reacional foi tratada com uma solução saturada de carbonato de sódio, à temperatura ambiente e a fase orgânica extraída com diclorometano. A purificação da mistura reacional foi efetuada por cromatografia de coluna em sílica gel, permitindo obter a metaloporfirina **7**, de coloração verde, com um rendimento de 70%.



Esquema 19

A análise dos respetivos espectros de UV-Vis, massa e de RMN das porfirinas obtidas permitiu confirmar as suas estruturas. O espectro de massa do derivado formilado mostra o pico m/z 548,2 devido ao íon $[M+H]^+$, confirmando a formilação no respetivo macrociclo. A análise do espectro de RMN de 1H , já é mais difícil do que o analisado anteriormente, uma vez que com a introdução do grupo formilo o macrociclo deixou de ser simétrico (Figura 43). O RMN de 1H evidência dois sinais em forma de singuleto, o sinal do próton do grupo formilo a δ 12,55 ppm e o sinal do próton H-20 a δ 10,22 ppm. Os oito prótons β -pirrólicos aparecem distribuídos por quatro dupletos, dois deles a δ 10,05 e

9,04 ppm ($J = 5,0$ Hz), e os restantes a δ 9,25 e 8,86 ppm ($J = 4,6$ Hz). A δ 8,19 ppm surge um sinal em forma de duplo duplete ($J = 7,6$ e 1,8 Hz) correspondente à ressonância dos quatro prótons *orto*, e finalmente a δ 7,70-7,92 ppm temos um multipeto correspondente à ressonância dos seis prótons *meta* e *para*.

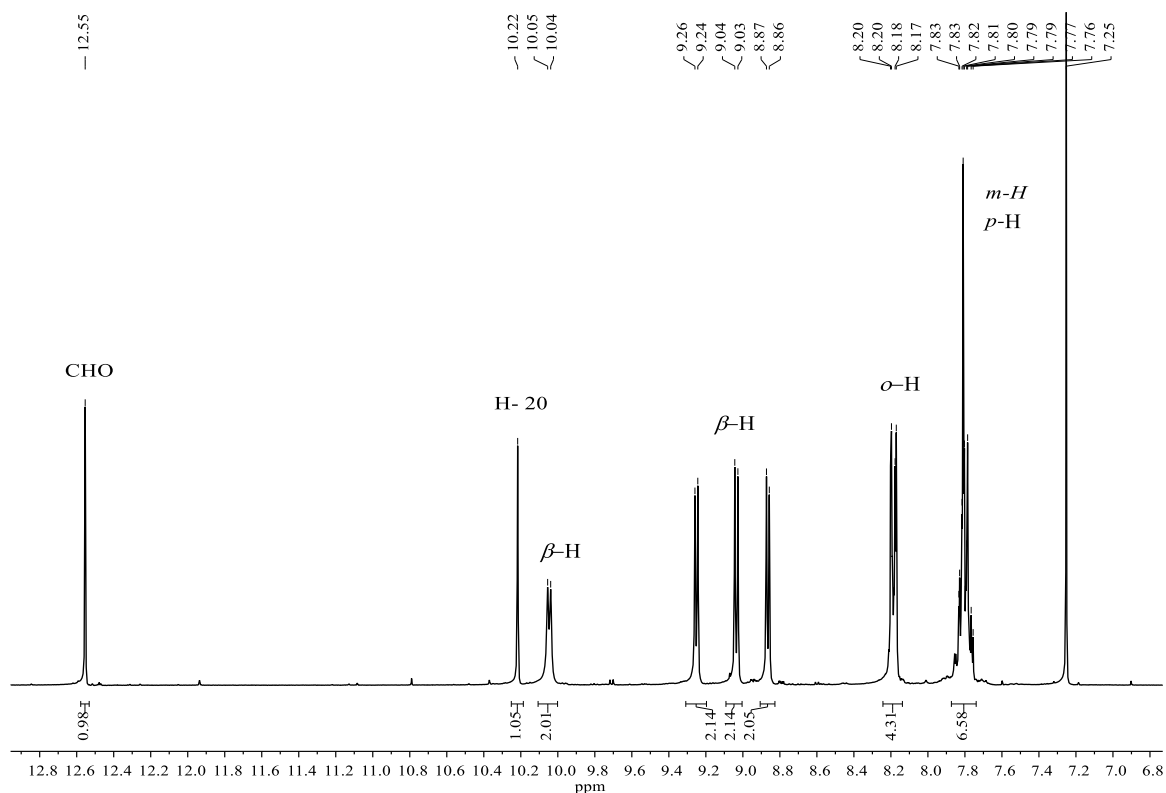
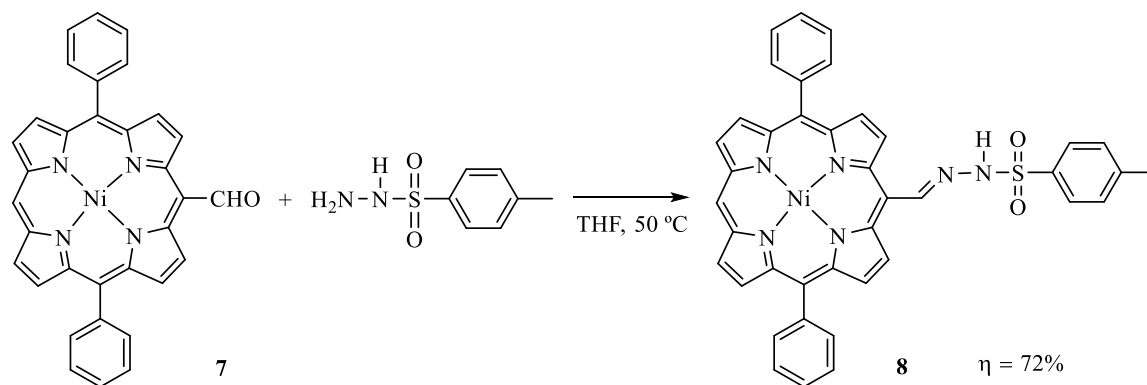


Figura 43 – Espectro de RMN de ^1H do composto **7** em CDCl_3 .

Sintetizada a porfirina **7** procedeu-se ao acoplamento de aminas na tentativa de obter novos compostos com potencialidade para quimiossensor de aniões. Assim à porfirina formulada **7** dissolvida em THF adicionou-se a *p*-toluenossulfonil hidrazina em excesso, funcionando também como base, e a reação foi deixada a reagir à temperatura ambiente durante 4 horas. Não se verificando um grande consumo da porfirina de partida, aumentou-se a temperatura para 50 °C e deixou-se a reação durante a noite. A porfirina que aparentava uma cor verde mudou para tons de vermelho dando origem ao composto **8**, como apresentado no Esquema 20.



Esquema 20

A análise do respetivo espectro de RMN de ^1H permitiu confirmar a estrutura do composto **8**. O espectro de RMN de ^1H esperado para a porfirina **8** deveria ser semelhante ao espectro apresentado na Figura 43 do composto **7** com o aparecimento dos sinais referentes ao grupo tosilo e ausência do protão do grupo formilo, mas o espectro de RMN de ^1H obtido é um pouco mais complexo (Figura 44). O RMN de ^1H evidência quatro sinais em forma de singuleto, o sinal dos protões CH_3 a δ 2,32 ppm, o sinal do protão H-20 a δ 10,09 ppm, o sinal do protão CH a δ 10,14 ppm e finalmente o sinal do protão NH a δ 12,13 ppm. Os oito protões β -pirrólicos aparecem distribuídos por dois sinais, um duplete referente à ressonância de quatro deles a δ 8,74 ppm ($J = 5,0$ Hz) e um duplo duplete referente a ressonância dos outros quatro a 9,36 ppm ($J = 8,5$ e 5,0 Hz). Ainda na zona aromática, a δ 7,44 e a δ 7,90 ppm, observam-se dois sinais em forma de duplete ($J = 8,2$ Hz) correspondentes à ressonância dos 4 protões *orto* e *meta* do grupo tosilo, respetivamente. A δ 7,87-7,74 ppm surge um sinal em forma de multiplete referente à ressonância dos 6 protões *meta* e *para* do grupo fenilo e finalmente a δ 7,99 ppm surge um sinal em forma de duplo duplete ($J = 7,4$ e 1,9 Hz) correspondente à ressonância dos 4 protões *orto*.

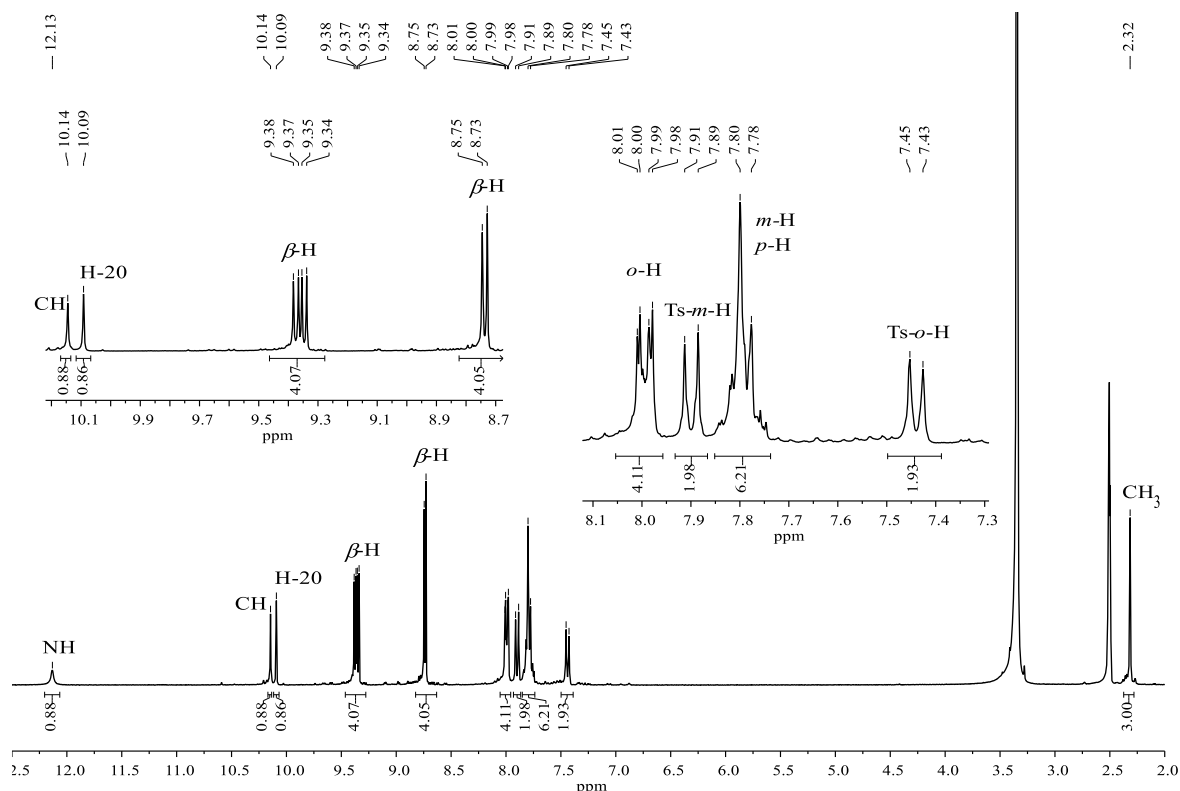


Figura 44 – Espetro de RMN de ^1H do composto **8** em $\text{DMSO-}d_6$.

Além da caracterização por RMN de ^1H conseguiu-se obter um cristal único capaz de ser resolvido por cristalografia de raios-X (Figura 45). Como demonstrado na Figura 45, o cristal do composto **8** confirma a estrutura proposta, apresentando a ligação dupla imínica entre o C-33 e o N5.

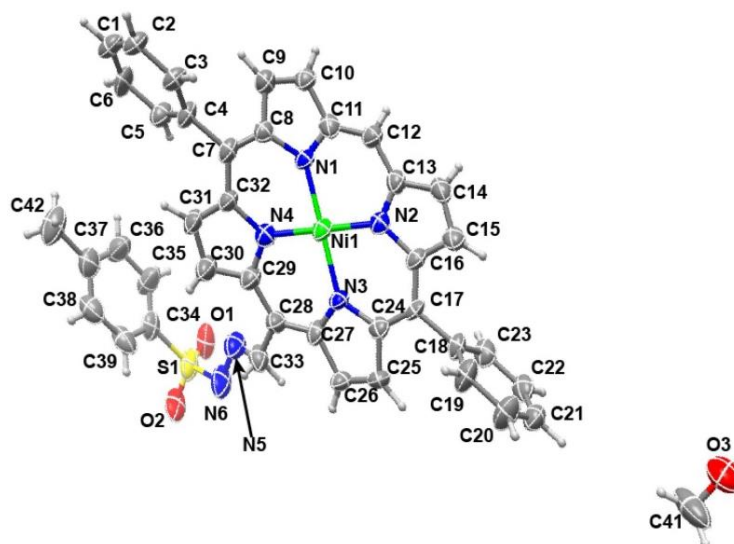


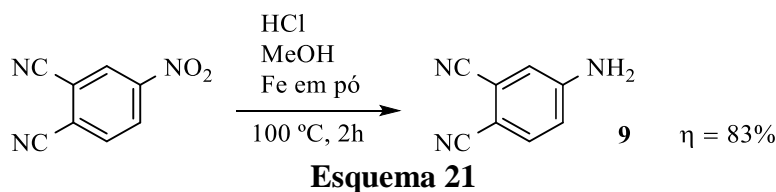
Figura 45 – Estrutura resolvida por cristalografia de raios-X do composto **8**.

2.2. Síntese de quimiossensores ftalocianínicos

Como referido no primeiro capítulo, até há data da escrita desta tese a ausência de referências na área dos quimiossensores de aniões baseados em ftalocianinas era bastante elevado, existindo mesmo apenas um trabalho desenvolvido pelo nosso grupo de investigação.⁹⁵ Dessa forma decidimos desenvolver uma série de compostos similares aos entretanto reportados anteriormente, ou seja com múltiplos grupos NH na sua periferia. Para além disso, prepararam-se vários complexos metálicos para estudar a influência do metal na coordenação com os aniões a estudar. Dessa forma seria possível avaliar o efeito sinérgico, ou não, do centro metálico e dos “braços” amínicos na interação/afinidade com os aniões. Assim, neste subcapítulo serão descritos os métodos de síntese e caracterização estrutural dos precursores e das metaloftalocianinas finais.

2.2.1 Síntese de ftalocianinas simétricas

Tendo em vista a preparação de ftalocianinas contendo grupos amina, iniciou-se este trabalho com a síntese dos seus precursores, os ftalonitrilos. Um dos principais objetivos consistia em obter com melhores rendimentos compostos similares aos reportados na literatura.⁹⁵ Para isso era fundamental obter ftalonitrilos necessários com rendimentos mais elevados e de mais fácil acesso. A síntese da ftalocianina utilizada como quimiossensor na literatura envolve 3 passos complexos com rendimentos limitados e com recurso à utilização de reagentes de cianeto. Assim, para a obtenção desta nova família de compostos começou-se pela síntese de ftalonitrilos, mais simples, neste caso com a intenção de obter ftalonitrilos mono-substituídos com grupos NH-Tosilo. Uma vez que os ftalonitrilos necessários finais não eram comerciais, começou-se a sua síntese pela redução do 4-nitroftalonitrilo a 4-aminoftalonitrilo. É de salientar que se encontra disponível comercialmente o 4-aminoftalonitrilo, mas o preço deste é bastante elevado comparado com o 4-nitroftalonitrilo. No Esquema 21 está apresentado a síntese do ftalonitrilo **9**.



O composto **9** foi obtido através da redução do grupo nitro, usando para isso um excesso de ferro em pó numa mistura de metanol e HCl, com um rendimento final de 83%. Apesar de este ftalonitrilo estar descrito na literatura, o seu espectro de RMN de ^1H será discutido ainda assim em pormenor, por se tratar do ftalonitrilo base dos compostos seguintes. O espectro de RMN de ^1H (Figura 46) apresenta um sinal em forma de singuleto a δ 6,72 ppm correspondente à ressonância dos dois prótons do grupo amina. Na zona aromática a δ 6,87 ppm temos um sinal em forma de um duplo duplete ($J = 8,7$ e $2,3$ Hz) referente à ressonância do próton H-5, a δ 7,03 ppm um duplete ($J = 2,3$ Hz) referente à ressonância do próton H-3 e finalmente a δ 6,65 ppm um duplete ($J = 8,7$ Hz) referente à ressonância do próton H-6. O derivado **9** apresenta pela técnica de HRMS-ESI o ião molecular com uma razão m/z 144,05510 correspondente a $[\text{M}+\text{H}]^+$, 166,03709 correspondente a $[\text{M}+\text{Na}]^+$ e 182,01097 correspondente a $[\text{M}+\text{K}]^+$.

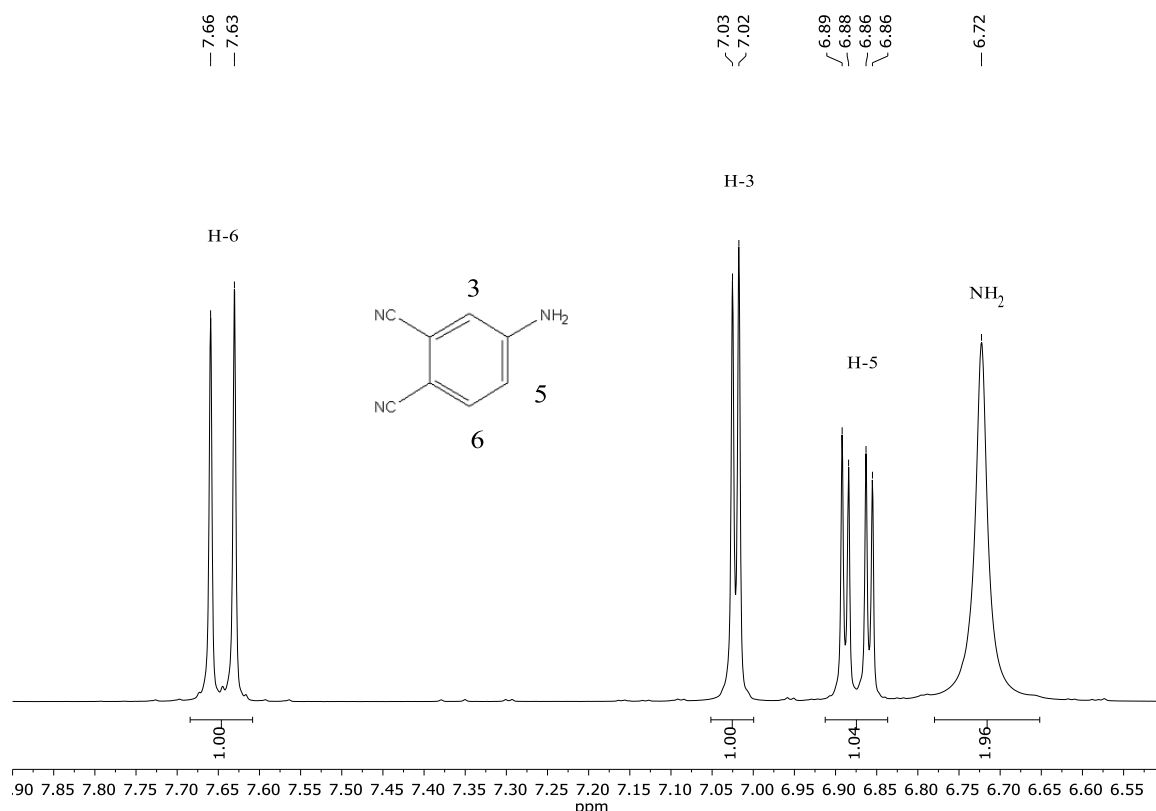
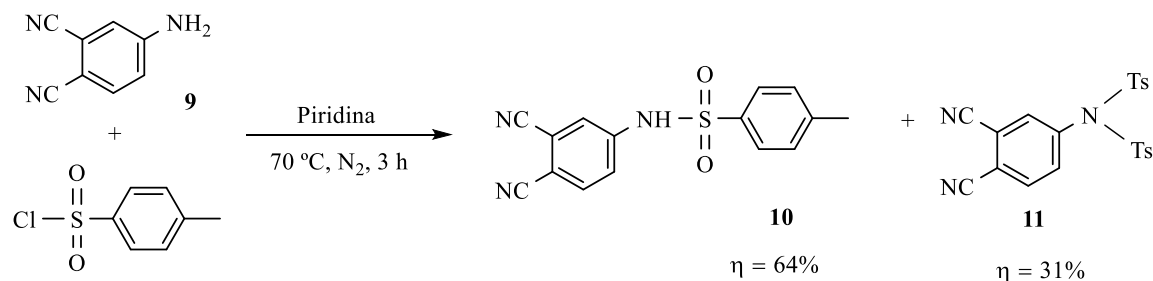


Figura 46 – Espectro de RMN de ^1H do composto **9** em $\text{DMSO}-d_6$.

Após sintetizado e caracterizado o composto **9** iniciou-se a síntese do ftalonitrilo necessário para a obtenção das ftalocianinas finais pretendidas. Assim, como se pode ver no Esquema 22 o composto **10** foi obtido através de uma substituição nucleofílica, usando um

pequeno excesso de cloreto de *p*-toluenossulfonilo (mais conhecido por cloro tosilo) em piridina a 70 °C sob atmosfera de azoto. Quando se repetiu a mesma síntese mas em quantidades superiores, numa tentativa de *scale up*, não se obteve apenas o composto final **10**, mas também o ftalonitrilo **11** di-substituído com o grupo *p*-toluenossulfonilo.



Esquema 22

O espectro de RMN de ¹H do composto **10** e **11** são idênticos entre si, variando apenas na ausência do sinal referente à integração do próton NH e a integração do número de prótons em cada sinal do grupo tosilo inserido. Na Figura 47 está representado o espectro de RMN de ¹H do composto **10**, o qual apresenta na zona alifática um sinal em forma de singuleto a δ 2,36 ppm correspondente à ressonância dos três prótons do grupo metilo. A δ 6,72 ppm temos um singuleto largo correspondente à ressonância do próton NH. Na zona aromática do espectro de RMN, a δ 7,42 e a 7,79 ppm, temos dois sinais em forma de duplete (*J* = 8,2 Hz) referente à ressonância dos prótons aromáticos *orto* e *meta* do grupo tosilo, respetivamente. A δ 7,52 ppm temos um sinal em forma de duplo duplete (*J* = 8,7 e 2,3 Hz) referente à ressonância do próton H-5. Finalmente a δ 7,61 e a 7,98 ppm temos dois sinais em forma de duplete, referente à ressonância do próton H-3 (*J* = 2,3 Hz) e H-6 (*J* = 8,7 Hz), respetivamente. O derivado **10** apresenta ainda o ião molecular em HRMS-ESI com uma razão *m/z* 298,06355 correspondente a [M+H]⁺ comprovando assim a sua estrutura molecular.

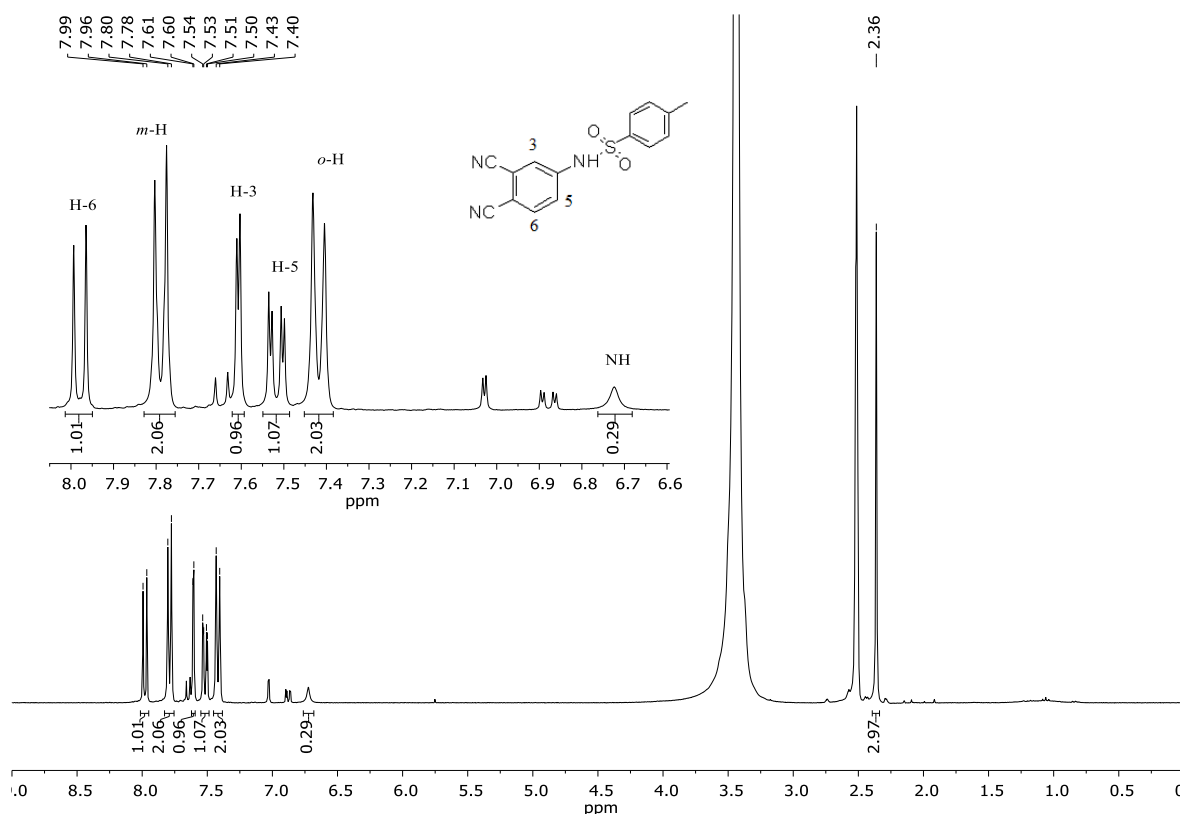
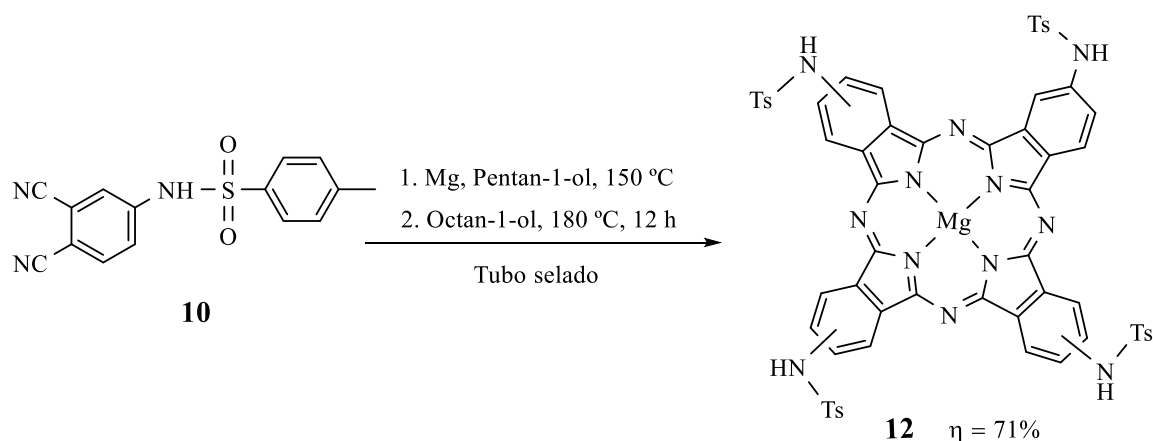


Figura 47 – Espetro de RMN de ^1H do composto **10** em $\text{DMSO-}d_6$.

Após a síntese e caracterização dos ftalonitrilos pretendidos procedeu-se à síntese das ftalocianinas com potencial aplicação como quimiossensores de aniões. O método de síntese escolhido envolveu a formação prévia do bis(pentan-1-olato) de magnésio por reação entre o pentan-1-ol com limalhas de magnésio a $150\text{ }^\circ\text{C}$ num tubo selado. Este método foi o escolhido pois o nosso interesse é estudar ftalocianinas livres e com diferentes iões metálicos no interior do seu núcleo. O magnésio e o lítio são iões metálicos que facilmente são removidos quando as ftalocianinas estão expostas em soluções ácidas, enquanto os restantes metais são muito mais difíceis de serem removidos. Uma vez o metal removido é obtida a ftalocianina de base livre, sendo esta depois facilmente complexada com diferentes metais. Uma vez que as limalhas de magnésio não se encontravam nas melhores condições (apresentavam sinais de oxidação) foi necessário “ativa-las” previamente, lavando-as com uma solução diluída de ácido clorídrico. Após este processo, a limalha de magnésio foi colocada a reagir com o pentan-1-ol em tubo selado, onde a formação do bis(pentan-1-olato) de magnésio foi acompanhada através de formação de um gel. Assim foi adicionado ao tubo selado o ftalonitrilo **10** e octan-1-ol aumentando-se a temperatura para $180\text{ }^\circ\text{C}$ (Esquema 23). Controlou-se a reação por TLC e ao fim de 12 horas de reação já não havia ftalonitrilo de

partida. A mistura reacional foi arrefecida à temperatura ambiente e decantada para um copo onde estava uma mistura de água/metanol (1:10) tendo-se verificado a formação de um precipitado de cor verde. O precipitado foi filtrado e dissolvido com uma mistura de diclorometano/metanol. A solução orgânica foi lavada com água e evaporada a pressão reduzida. O resíduo foi retomado em diclorometano/metanol e depois precipitado com hexano, dando origem a um sólido verde. Após a caracterização do sólido foi possível confirmar a síntese da ftalocianina **12**, com um rendimento de 71%.



Esquema 23

Quando se utilizam ftalonitrilos não simétricos na síntese de ftalocianinas, como é o caso do ftalonitrilo **12**, obtém-se uma mistura de isómeros. Uma vez que a posição do grupo substituinte no ftalonitrilo é bem identificada, quando se efetua a síntese da ftalocianina final os grupos substituintes tanto se podem encontrar nas posições β_1 ou β_2 do macrociclo. Assim, neste caso foi obtido uma mistura de isómeros, que iremos considerar que se de uma estrutura simétrica se tratasse, para facilitar a discussão de resultados da caracterização dos compostos. Assim, a estrutura da ftalocianina **12** foi confirmada por espectroscopia de RMN de ^1H , HRMS-ESI e UV-Vis. Como se pode ver na Figura 48 está representado o espectro de RMN de ^1H do composto **12** que apresenta na zona alifática um único sinal a δ 2,26 ppm, em forma de singuleto, o qual integra para 12 protões, correspondentes à ressonância dos protões do grupo metilo. Na zona aromática do espectro a δ 7,41 ppm temos um sinal em forma de tripleto ($J = 8,1$ Hz) que integra para 8 protões correspondentes à ressonância dos protões *o*-H do grupo tosilo. Entre δ 7,87-8,08 ppm encontramos um sinal em forma de multiplete que integra para 12 protões correspondentes à ressonância dos 8 protões *m*-H do grupo tosilo e dos 4 protões β -H. A δ 9,08 e a 9,13 ($J = 6,0$ Hz) ppm

encontramos dois sinais em forma de duplete correspondentes à ressonância dos 4 prótons α_2 -H. A 9,21 (J= 8,1 e 1,6 Hz) ppm temos um sinal em forma de duplo duplete, correspondente à ressonância dos quatro prótons α_1 -H. Finalmente a δ 11,17 ppm temos um sinal em forma de singuleto largo que integra para 4 prótons correspondentes à ressonância dos prótons N-H. O espectro de HRMS-ESI apresenta um ião com razão m/z 1213,2165 que corresponde ao ião $[M+H]^+$. No espectro de UV-Vis é também possível encontrar uma banda Q com um máximo de absorção a 685 nm e uma banda Soret a 360 nm.

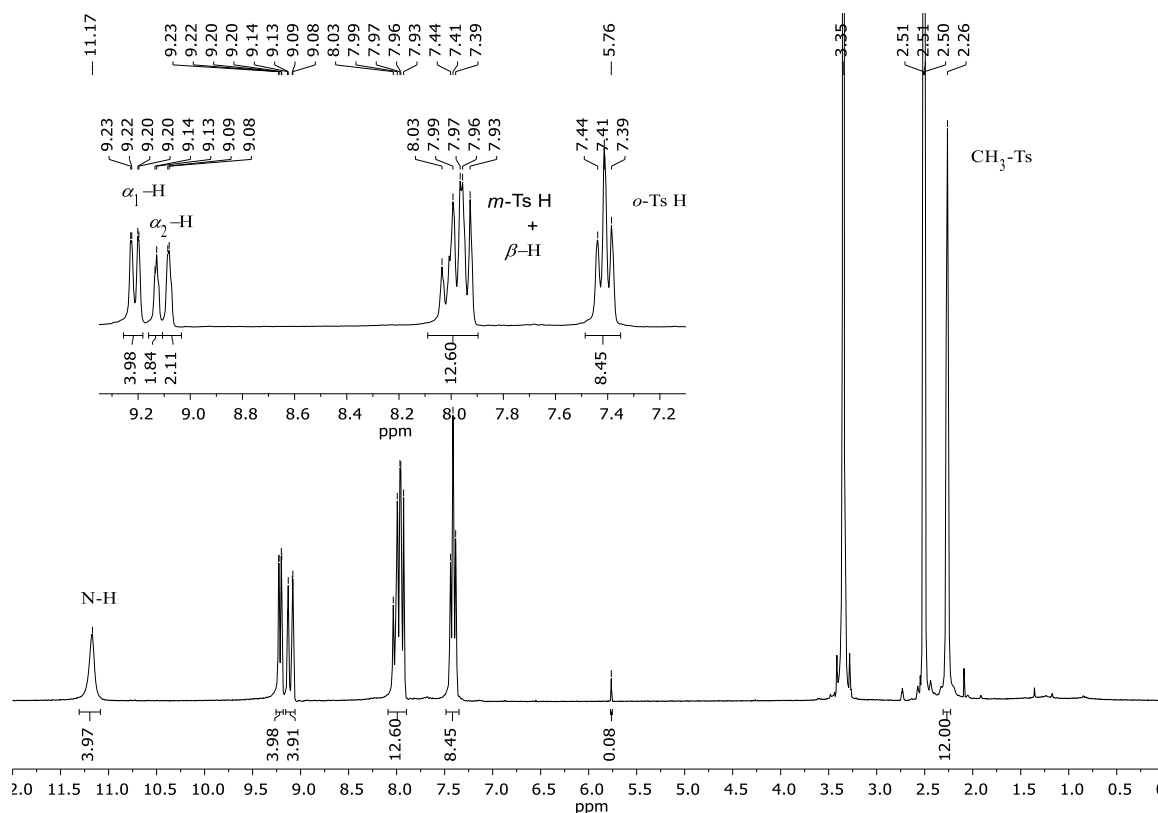
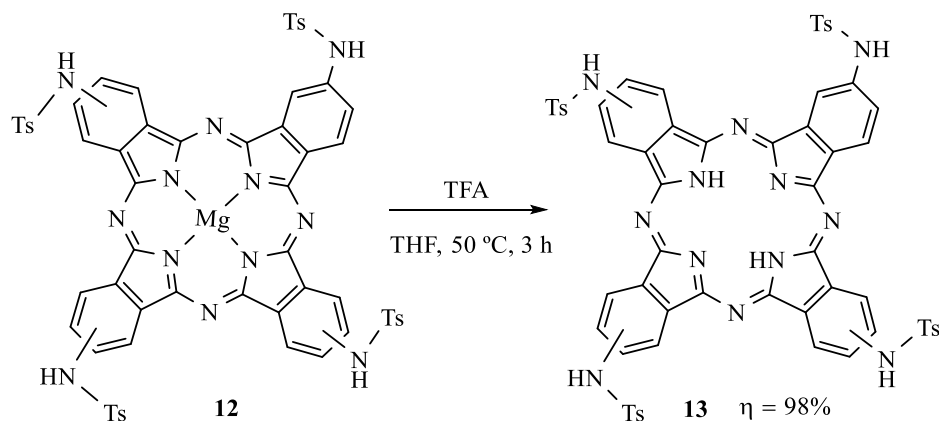


Figura 48 – Espectro de RMN de ^1H do composto **12** em $\text{DMSO}-d_6$.

Tendo sido sintetizada e caracterizada a ftalocianina **12** complexada com o ião magnésio, procedeu-se à sua descomplexação com o objetivo de preparar a correspondente ftalocianina livre. Para isso dissolveu-se a ftalocianina **12** em THF num balão e adicionou-se TFA de seguida, deixou-se reagir durante 3 horas a 50 °C (Esquema 24).

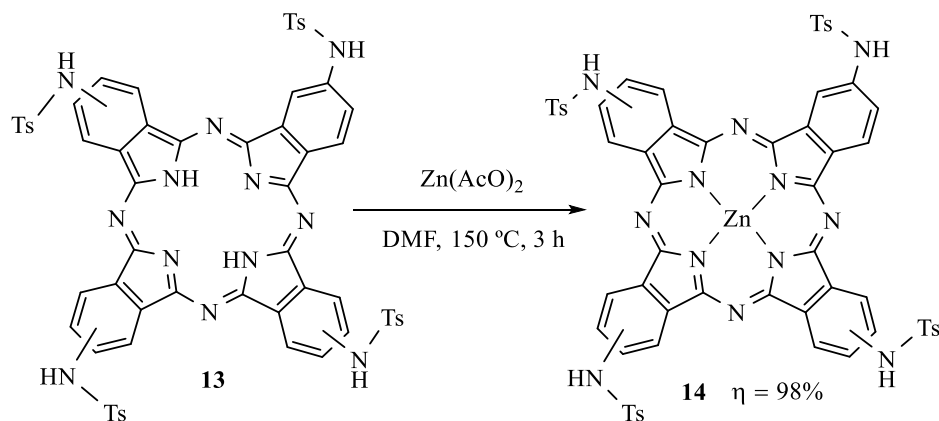


Esquema 24

A reação de descomplexação foi seguida por TLC, verificando-se a formação de uma nova banda. Após análise por UV-Vis verificou-se o desdobramento da banda Q devido à diminuição de simetria da molécula, o que acontece quando estes macrociclos não se encontram metalados. De seguida a mistura reacional foi neutralizada com uma solução saturada de KHCO_3 , lavada várias vezes com água e finalmente extraída. A fase orgânica foi evaporada à secua a pressão reduzida. O resíduo foi retomado em diclorometano/metanol e depois precipitado com hexano, dando origem a um sólido verde identificado como sendo a ftalocianina **13**.

A estrutura da ftalocianina **13** foi confirmada por espectroscopia de RMN de ^1H , HRMS-ESI e UV-Vis. O espectro de RMN de ^1H do composto **13** é muito similar ao do composto **12** diferenciando apenas no aparecimento de um sinal em forma de singuleto a δ -2,21 ppm correspondente à ressonância dos 2 prótons NH do núcleo da ftalocianina. A resolução do espectro é inferior ao apresentado na Figura 48 pois o composto agrega com muita facilidade, dificultando a obtenção de um bom espectro de RMN de ^1H , independentemente do solvente utilizado. O espectro de HRMS-ESI apresenta um ião com razão m/z 1191,0396 que corresponde ao ião $[\text{M}+\text{H}]^+$. No espectro de UV-Vis é também possível encontrar um desdobramento da banda Q com máximos de absorção a 674 e 704 nm, e uma banda Soret a 350 nm.

Para a obtenção do complexo de zinco **14** procedeu-se à metalação da ftalocianina **13** com um excesso de acetato de zinco em DMF a 150 °C (Esquema 25).



Esquema 25

A complexação do composto **13** foi controlada novamente por TLC e por UV-Vis, tendo-se verificado neste caso, tal como na Pc **12**, que a banda Q não apresentava desdobramento. Terminada a reação, a mistura reacional foi lavada várias vezes com água para se remover o excesso de acetato de zinco. Extraíu-se a fase orgânica com uma mistura de diclorometano/metanol (90:10) e seguidamente esta foi evaporada à secua a pressão reduzida. O resíduo foi retomado em diclorometano com um pouco de metanol e depois precipitado com hexano, dando origem novamente a um sólido verde identificado como sendo a ftalocianina **14**.

Na Figura 49 estão representados os espectros de UV-Vis dos compostos **12** a **14**. Como podemos verificar a ftalocianina **12** complexada com o metal magnésio apresenta um máximo de absorção da banda Q a 685 nm, a ftalocianina de base livre **13** tem a banda Q desdobrada com máximos a 674 e 704 nm, e finalmente a ftalocianina **14** complexada com o ião zinco apresenta um máximo de absorção da banda Q a 690 nm. A estrutura da ftalocianina **14** foi também confirmada por espectroscopia de RMN de ^1H em que o espectro é igual ao do composto **12** pois a única diferença estrutural das duas moléculas é o ião no centro da ftalocianina. O espectro de HRMS-ESI apresenta um ião com razão m/z 1252,16107 que corresponde ao ião $[\text{M}+\text{H}]^+$.

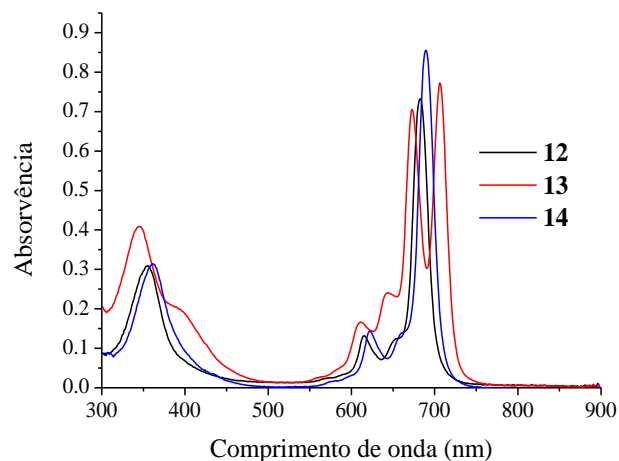
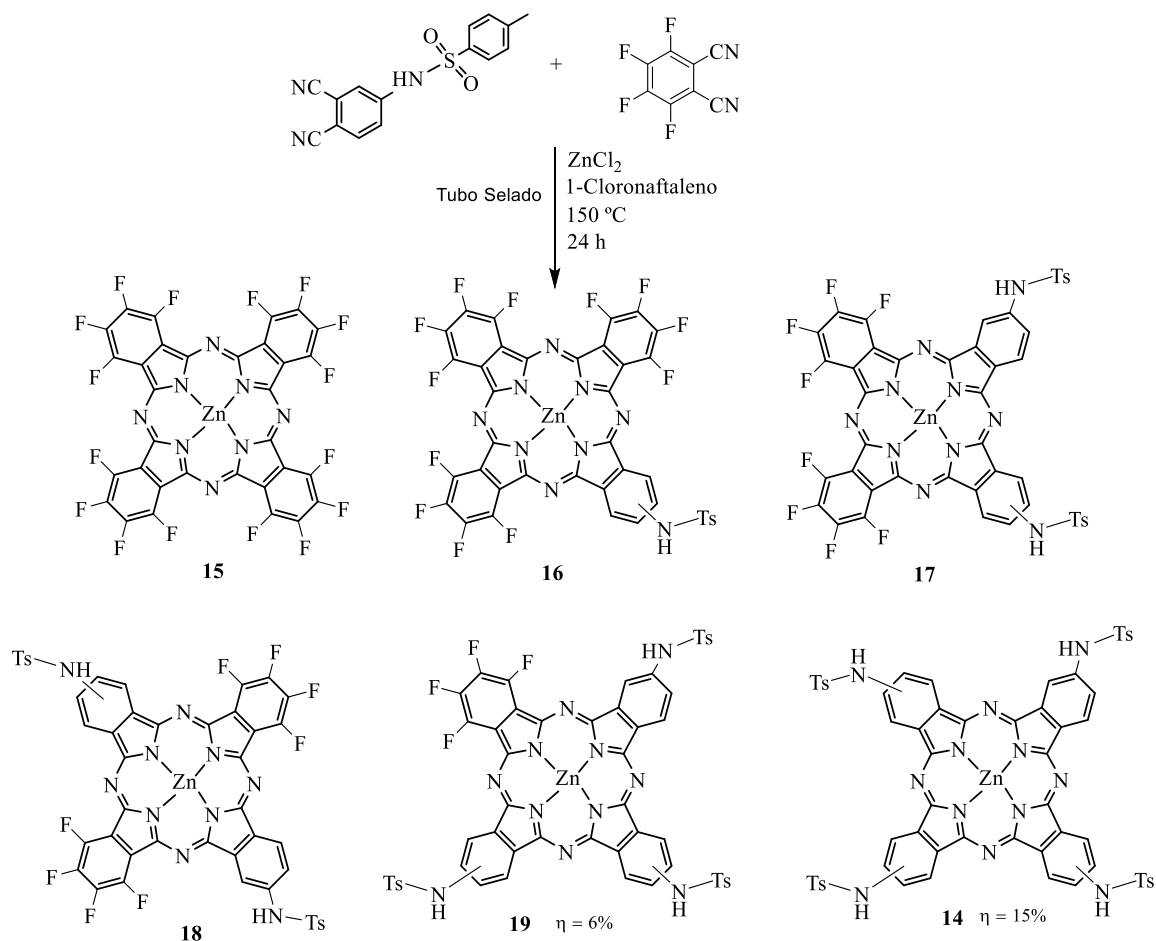


Figura 49 – Espectro UV-Vis dos compostos **12-14**.

2.2.2 Síntese de ftalocianinas assimétricas

Após a síntese de várias ftalocianinas com potencial aplicação como quimiossensores de aniões, procedeu-se de seguida à síntese de ftalocianinas assimétricas com o intuito de poderem ser ligadas covalentemente a diversos suportes sólidos formando assim materiais híbridos, ou seja, ftalocianinas que contenham grupos possíveis de interagir com aniões e grupos ou elementos possíveis de ligar covalentemente a diversos materiais.

Assim, para sintetizar as ftalocianinas com diferentes grupos funcionais, fez-se reagir o ftalonitrilo **10** com o tetrafluoroftalonitrilo. Neste caso não foi possível usar o método de síntese da formação prévia do bis(pentan-1-olato) de magnésio pois este facilmente substituiria os átomos de flúor presentes num dos ftalonitrilos. Neste caso foi escolhido a condensação dos ftalonitrilos em 1-cloronaftaleno na presença de cloreto de zinco. Assim a síntese foi levada a cabo adicionando os ftalonitrilos num tubo selado uma proporção de 6:1 (ftalonitrilo **10** : tetrafluoroftalonitrilo) em 1-cloronaftaleno na presença de 0,5 equiv. de cloreto de zinco a 150 °C durante 24 horas como ilustrado no Esquema 26.



Esquema 26

A reação foi acompanhada por TLC, tendo-se verificado a formação de 5 manchas, sendo as de maior intensidade as duas manchas mais polares. Como após 24 horas de reação já não se verificava a presença de ftalonitrilos de partida no TLC deu-se por terminada a reação. Arrefeceu-se a mistura reacional à temperatura ambiente e foi adicionado água ao tubo selado. O precipitado formado foi filtrado e lavado com água e metanol para a remoção do cloreto de zinco que não tivesse reagido e de algumas impurezas presentes na mistura reacional. O precipitado foi dissolvido em diclorometano com um pouco de metanol e evaporado à secura com um pouco de sílica para se efetuar um depósito sólido. De seguida efetuou-se a separação dos diferentes produtos por coluna de sílica gel usando THF/hexano (1:1) como eluente para as primeiras três frações e THF/hexano (3:1) para as duas últimas. As cinco frações foram isoladas e as três primeiras foram caracterizadas apenas por espectrometria de massa pois devido à reduzida quantidade obtida. A quarta e a quinta frações foram caracterizadas por espectrometria de massa, RMN de ^1H e ^{19}F , e UV-Vis. A primeira fração que foi assim identificada como sendo o composto **15** (modelo **BBBB**) onde

o espectro de MALDI-TOF apresenta um íão com razão m/z 866,8 que corresponde ao íão $[M+H]^+$. A segunda fração foi identificada como sendo o composto **16** (modelo **ABBB**) onde o espectro de MALDI-TOF apresenta um íão $[M+H]^+$ com razão m/z 964,1. A terceira fração que foi identificada como sendo o composto **17** e/ou **18** (modelos **AABB** e **ABAB**) onde o espectro de MALDI-TOF apresenta um íão com razão m/z 1061,2, correspondente ao íão $[M+H]^+$.

A quarta fração foi identificada como sendo o composto **19** (modelo **AAAB**) onde o espectro de HRMS (ESI) apresenta um íão com razão m/z 1158,9879 que corresponde ao íão $[M+H]^+$. A estrutura do composto **19** foi ainda confirmada por espectroscopia de RMN de 1H e ^{19}F . O espectro de RMN de 1H do composto **19** (Figura 50), apresenta baixa resolução muito devido a ser uma mistura de isômeros, mas mesmo assim a integração dos sinais permitiram identificar todos os prótons da molécula. A δ 2,26 ppm está um sinal em forma de singuleto que integra para 9 prótons correspondente à ressonância dos prótons do grupo CH_3 . Na zona aromática do espectro encontramos três sinais em forma de multipletos, o primeiro a δ 7,30-7,54 ppm que integra para 6 prótons correspondentes à ressonância dos prótons *o*-H do grupo tosilo. A δ 7,83-8,19 ppm encontramos o segundo multipletos correspondente à ressonância dos 6 prótons *m*-H do grupo tosilo e dos 3 prótons β -H e a δ 8,79-9,15 ppm o sinal corresponde à ressonância dos 6 prótons α -H. Finalmente a δ 11,17 ppm temos um sinal em forma de singuleto que integra para 3 prótons correspondente à ressonância dos prótons N-H.

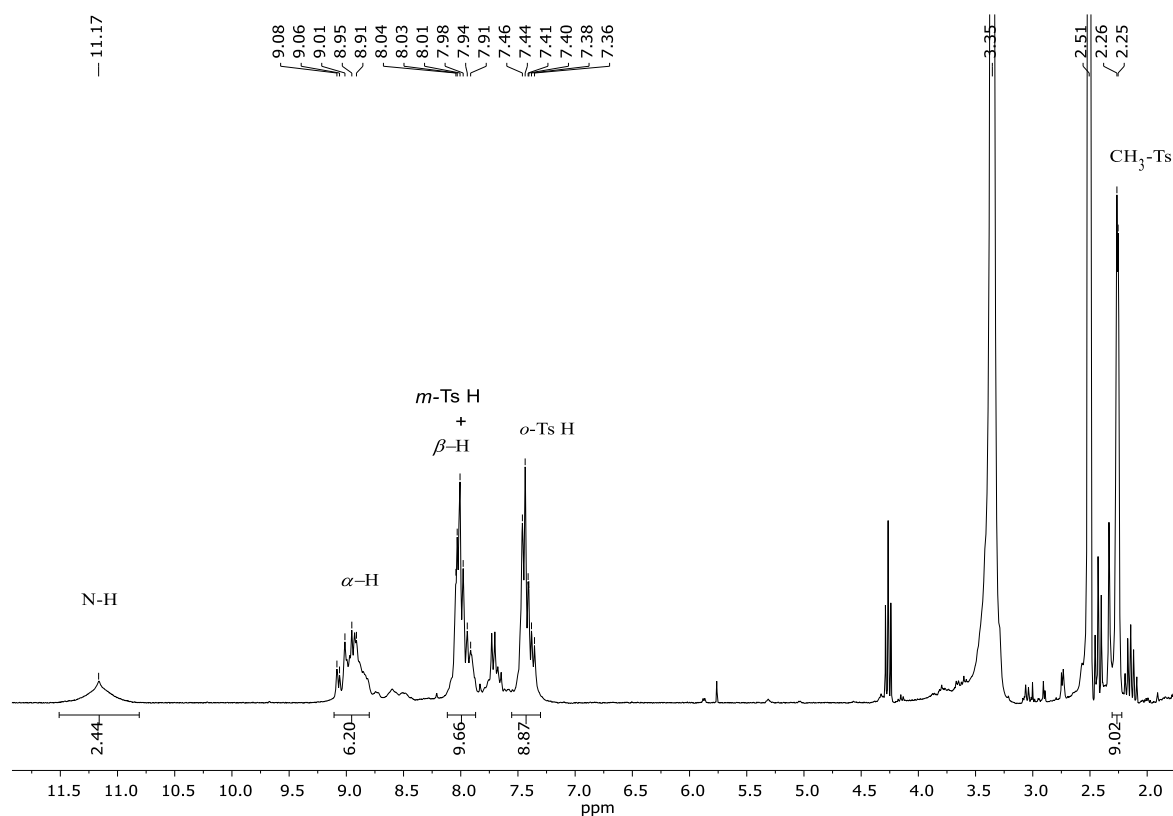


Figura 50 – Espetro de RMN de ^1H do composto **19** em $\text{DMSO-}d_6$.

Por espectroscopia de RMN de ^{19}F também foi possível confirmar a estrutura do composto **19** pois é possível verificar apenas dois sinais, ambos em forma de multiplete. A δ -133,39 – -133,73 ppm temos a ressonância dos dois átomos de flúor da posição α -F e outro a δ -160,78 – -160,89 ppm surge a ressonância dos dois átomos de flúor da posição β -F (Figura 51).

A quinta e a última fração foi identificada como sendo o composto **14** (modelo **AAAA**).

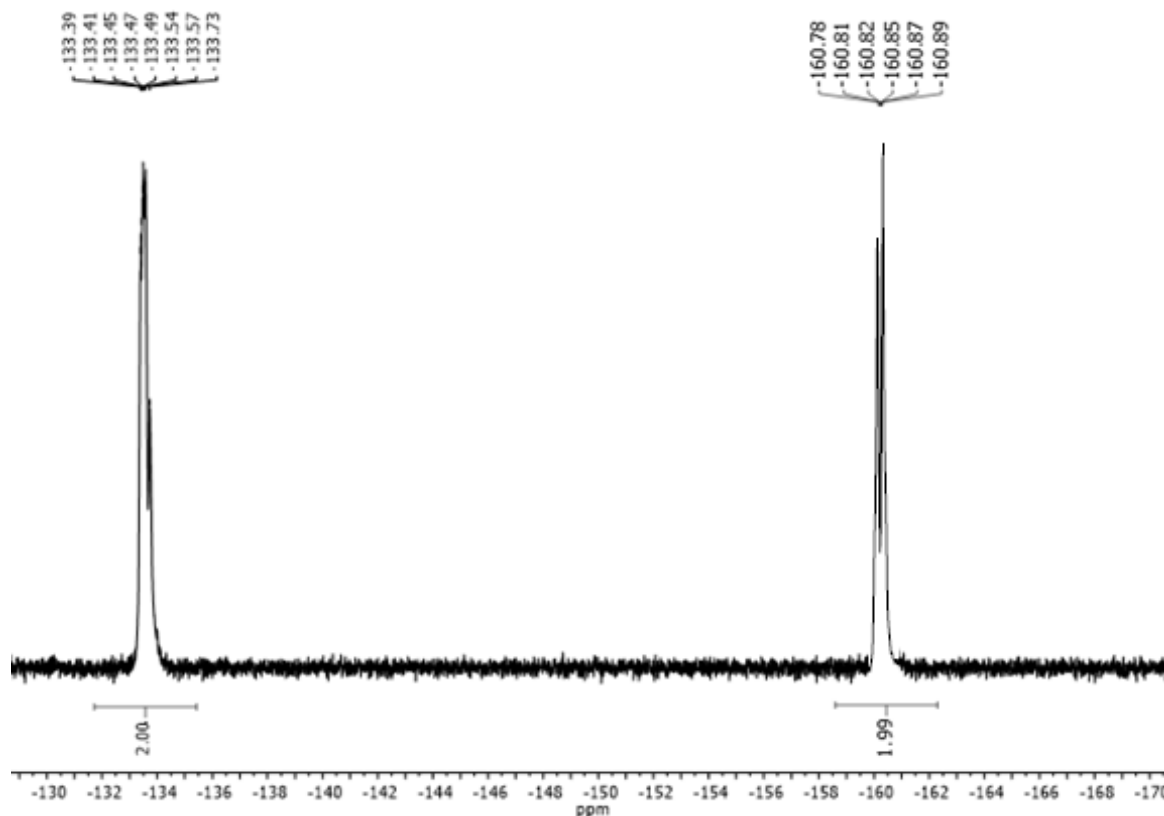


Figura 51 – Espetro de RMN de ^{19}F do composto **19** em $\text{DMSO-}d_6$.

2.3. Conclusões

A primeira parte deste trabalho consistiu na síntese e caracterização dos compostos porfirínicos a estudar posteriormente como quimiossensores de aniões. Foram preparados vários derivados porfirínicos contendo grupos amina, obtidos por reação de substituição nucleofílica aromática entre a porfirina de partida **TPPF₂₀** e diversas diaminas. Os novos derivados sintetizados foram obtidos com ótimos rendimentos. De seguida procedeu-se à síntese da porfirina 5,15-di-substituída obtida por reação de dipirrometanos. Obtida a porfirina di-substituída, esta foi funcionalizada na posição *meso* e depois acoplada com uma amina para assim se obter um novo derivado. Para este novo derivado além da sua caracterização estrutural por RMN foi ainda caracterizado por cristalografia de raios-X. Como foi obtido numa fase final do trabalho de doutoramento não foi testado como quimiossensor de aniões.

Numa segunda parte descreveu-se pormenorizadamente os métodos de síntese e de caracterização estrutural para se obter os quimiossensores ftalocianínicos. A partir do ftalonitrilo comercial, o 4-nitroftalonitrilo, obteve-se o 4-aminoftalonitrilo que

posteriormente foi funcionalizado com o *p*-toluenossulfonilo. Obtido o precursor, a ftalocianina foi obtida via reação de ciclotetramerização desse mesmo ftalonitrilo na presença de magnésio. Com tratamento em meio ácido foi obtida a ftalocianina de base livre que posteriormente foi complexada com ião zinco. Procedeu-se também à síntese da ftalocianina assimétrica **19** obtida por reação de ciclotetramerização do ftalonitrilo **10** e do tetrafluoroftalonitrilo na presença de cloreto de zinco. A síntese deste composto é bastante morosa e é obtido com um rendimento muito baixo comparado à porfirina simétrica. A purificação também é bastante difícil, pois é um composto que agrega com facilidade e é necessária a purificação da mistura reacional onde são obtidos vários compostos, que são muito polares, precipitando muitas vezes nas colunas de sílica.

Todos os macrociclos foram caracterizados por RMN de ^1H , ^{13}C e ^{19}F , por espectroscopia de UV-Vis, por espectrometria de massa MALDI ou por espectrometria de massa de alta resolução (HRMS-ESI) permitindo confirmar as estruturas obtidas. No caso do composto **8**, este foi também caracterizado por cristalografia de raios-X.

CAPÍTULO III

Estudo do comportamento dos compostos sintetizados com aniões

3 Estudo do comportamento dos compostos sintetizados com aniões

Para determinar a capacidade de uma molécula interagir com um anião/molécula neutra é necessário calcular a constante de afinidade (K), e esta pode ser determinada utilizando diversas técnicas, de entre as quais se destacam a calorimetria isotérmica de titulação (ITC), ressonância magnética nuclear (RMN), a espectroscopia de fluorescência e a espectroscopia de absorção UV-Vis. Para que um equilíbrio seja estudado por qualquer uma destas técnicas, é necessário que a formação do complexo provoque uma alteração nas propriedades físico-químicas do composto que possa ser detetável.

A ITC é uma técnica usada para determinar os parâmetros termodinâmicos das interações em solução. É frequentemente utilizada no estudo da interação de moléculas pequenas (tais como compostos medicinais) com macromoléculas como: proteínas, DNA ou ciclodextrinas. É uma técnica quantitativa que pode medir diretamente a constante de afinidade, variação de entalpia (ΔH) e a estequiometria de ligação (n) resultantes da interação entre duas ou mais moléculas em solução.

O RMN também é uma importante técnica para o estudo de complexos hospedeiro-hóspede e para observar a variação de conformação que ocorre no hospedeiro devido à interação com o hóspede. Uma pequena perturbação no equilíbrio entre duas moléculas provoca uma alteração significativa nos respetivos meios eletrónicos, conduzindo a uma mudança nos sinais no espectro de RMN.

As espectroscopias de fluorescência e UV-Vis representam os métodos mais utilizados e rápidos para o estudo do equilíbrio entre moléculas.^{78,86,95,97} A variação no espectro de fluorescência/absorvência está diretamente relacionada com as concentrações das espécies em solução, o que nos permite o cálculo das constantes de afinidade.

3.1 Modelo para o estudo das constantes de afinidade por UV-Vis

Com a determinação do valor numérico da constante de afinidade é possível caracterizar o tipo de equilíbrio que se forma e comparar a eficiência de uma determinada molécula para complexar com outra. Para se determinar a constante de afinidade de uma determinada reação é necessário saber a estequiometria da mesma. Esta é geralmente determinada pelo método de Job, também denominado “método da variação contínua”. Este método pressupõe que a quantidade máxima de produto em equilíbrio formar-se-á quando

as proporções dos reagentes utilizados corresponderem à fórmula empírica do produto. É importante referir que este método apresenta algumas limitações, sendo falível para estequiometrias superiores ao caso mais simples, que é a estequiometria de 1:1. Na prática, quando numa titulação os diversos espectros de UV-Vis traçados apresentam mais do que um ponto isobéstico ou um ponto isobéstico não preciso, é caso para suspeitar que poderemos estar na presença de um equilíbrio múltiplo. O modelo matemático que melhor se ajustar aos valores experimentais é aquele que melhor descreve a estequiometria do complexo.¹⁸⁷

Para a determinação dos valores de K são geralmente empregues dois métodos distintos em espectroscopia de UV-Vis. Estes dois métodos são designados como método direto e método indireto. Na Figura 52 pode ser observada uma representação esquemática destes dois métodos.¹⁸⁸

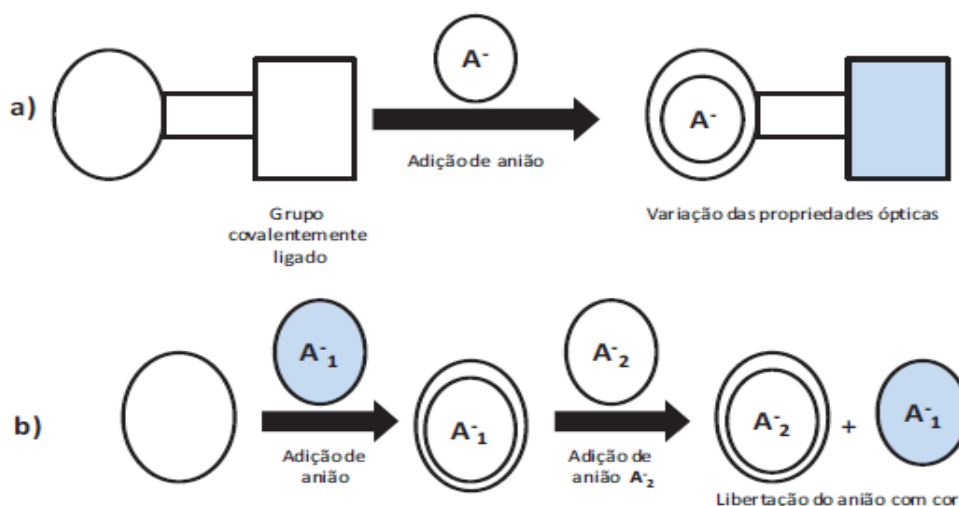


Figura 52 – Representação das respostas fornecidas por sistemas moleculares capazes de reconhecer aniões: **(a)** Grupo ligado covalentemente ao quimiossensor fornece uma resposta detetada por UV-Vis ou fluorescência; **(b)** Anião auxiliar fornece uma resposta detetada também por UV-Vis ou fluorescência.¹⁸⁸

Quando o quimiossensor exibe absorção na zona do UV-Vis aplica-se o método direto e assim determinam-se as constantes de afinidade entre o quimiossensor e o anião. O método indireto é aplicado quando o quimiossensor não exibe absorção na zona do UV-Vis. Na prática a determinação real da constante de afinidade apenas é efetuada no método direto. Pelo método indireto determina-se a constante de afinidade entre o quimiossensor e um anião auxiliar (anião este que apresenta um espectro de absorvência) e de seguida determina-se a

afinidade relativa ao anião em estudo. A afinidade relativa corresponde então à fração de anião auxiliar libertado. Para determinar os valores das constantes é necessário deduzir equações de equilíbrio.¹⁸⁸

3.1.1 Modelo de equilíbrio 1:1

Quando temos duas espécies que interagem entre si dando origem a apenas uma espécie final, estamos perante um equilíbrio simples (equilíbrio 1:1) e que pode ser representada pela seguinte equação 1:



Onde S é o sensor, A o anião, SA o complexo sensor:anião e K_{11} a constante de afinidade expressa em $\text{mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3$ (M^{-1}). Pela lei de Beer-Lambert, considerando que todas as espécies em solução se encontram nos limites de linearidade, é escolhido um comprimento de onda onde as absorvidades molares das espécies em solução sejam distintas entre si. Assim, através da equação que traduz a lei de Beer-Lambert e sabendo que a concentração inicial do sensor é $[S]_T$, podemos indicar que a absorvência inicial é dada pela equação 2.

$$Abs_0 = \epsilon_0 l [S]_T \quad (2)$$

Sabendo que a absorvência de uma solução num determinado comprimento de onda é o somatório das absorvências nesse comprimento de onda de todas as espécies que se encontram em solução, é possível escrever a equação 3 que nos fornece a absorvência em qualquer ponto em equilíbrio.

$$Abs_0 = \epsilon_s l [S] + \epsilon_A l [A] + \epsilon_{11} l [SA] \quad (3)$$

Em que [S] e [A] correspondem à concentração de sensor e anião no equilíbrio e [SA] à concentração do complexo sensor:anião formado no equilíbrio. Utilizando os balanços de massa e as diversas equações, obtemos a equação que nos permite calcular o valor da

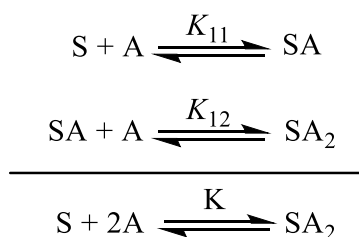
constante de afinidade K_{11} (equação 4). Assim, após os estudos onde traçamos todos os espectros de absorvências das diferentes adições de anião, é escolhido um comprimento de onda fixo e traçado um gráfico de variação de absorvências *vs* concentração de anião. De seguida, aos pontos experimentais obtidos na titulação é ajustada a equação 4 obtendo-se o valor de K_{11} . É utilizado o método dos mínimos quadrados, técnica de otimização matemática que procura o melhor ajuste para um conjunto de dados, tentando minimizar a soma dos quadrados das diferenças entre a curva teórica e os dados experimentais.¹⁸⁸

$$\frac{\Delta Abs}{l} = \frac{[S]_T K_{11} \Delta \varepsilon_{11} [A]}{1 + K_{11} [A]} \quad (4)$$

Para utilizar a equação 4, utilizam-se concentrações de sensor e anião muito distintas, caso contrário a aproximação, realizada nos balanços de massa, concentração de anião livre \approx concentração de anião total ($[A] \approx [A]_T$) não é válida. Se isso acontecer será necessário encontrar a equação que expresse a concentração de anião livre, facilmente deduzida pelos balanços de massa das espécies em solução.¹⁸⁸

3.1.2 Modelo de equilíbrio 1:2

Quando estamos perante um equilíbrio 1:2 entre uma molécula de sensor e dois aniões, este equilíbrio pode ser expresso por duas reações parciais, em que podem ser consecutivas ou paralelas. Podemos ter origem de curvas bifásicas, quando há ocorrência de reações consecutivas e há formação do complexo 1:1 e só depois é que começa a ocorrer a formação do complexo 1:2. Por outro lado temos origem de uma curva monofásica nas reações paralelas onde ocorre uma formação das duas espécies em simultâneo. As equações de equilíbrio, para ambos os processos, podem ser escritas da seguinte forma:



As constantes de equilíbrio podem ser representados por três expressões matemáticas, apresentadas nas equações (5), (6) e (7).

$$K_{11} = \frac{[SA]}{[S][A]} \quad (5)$$

$$K_{12} = \frac{[SA_2]}{[SA][A]} \quad (6)$$

$$K = K_{11} \cdot K_{12} = \frac{[SA_2]}{[S][A]^2} \quad (7)$$

Partindo novamente da Lei de Beer-Lamber e utilizando o mesmo raciocínio utilizado para o equilíbrio 1:1, deduz-se a equação (8). Esta equação pode ser aplicada para determinar os valores das diferentes constantes de afinidade.¹⁸⁸

$$\frac{\Delta Abs}{l} = \frac{[S]_T (K_{11} \cdot \Delta \epsilon_{11} \cdot [A] + K_{11} \cdot K_{12} \cdot \Delta \epsilon_{12} \cdot [A]^2)}{(1 + K_{11} \cdot [A] + K_{11} \cdot K_{12} \cdot [A]^2)} \quad (8)$$

Neste caso a constante global de equilíbrio (K) é expressa em M^{-2} , uma vez que representa o produto entre K_{11} e K_{12} , ambas expressas unitariamente em M^{-1} . Para outro tipo de equilíbrio o mesmo raciocínio pode ser aplicado, de modo a chegar a uma equação final que descreva a ΔAbs em função de K .¹⁸⁸

De seguida, nos próximos dois subcapítulos, descrevem-se os resultados obtidos na determinação de constantes de afinidade de duas famílias de compostos sintetizados, porfirinas e ftalocianinas, utilizando o método direto, em espectroscopia de UV-Vis. São também discutidos outras características dos compostos, como por exemplo os compostos apresentarem respostas cromogénicas no reconhecimento de aniões, como é o caso das ftalocianinas.

3.2 Testes de complexação de aniões com quimiossensores porfirínicos

Os estudos de complexação de aniões com porfirinas foram realizados utilizando a espectroscopia UV-Vis. As titulações foram realizadas usando soluções conhecidas de cada porfirina, às quais foram adicionadas alíquotas de uma solução de anião. As titulações foram seguidas através das perturbações causadas pela presença dos aniões na banda Soret das porfirinas. Estas variações na absorvência foram usadas para determinar as constantes de

afinidade pelo método dos mínimos quadrados, usando uma equação de 1:1 ou 1:2. Os testes foram realizados em clorofórmio a 22 °C. As titulações foram repetidas 3 vezes por cada estudo e foi determinada uma margem de reprodutibilidade num intervalo de 15-20%. Efetuou-se o estudo com diferentes aniões, tais como acetato, brometo, cloreto, di-hidrogenofosfato, fluoreto, nitrato e nitrito, todos na forma de sais de tetrabutylamónio (TBA). O primeiro estudo efetuado foi verificar se a porfirina de partida (**TPPF₂₀**) interagiria com os aniões alterando o seu espectro de visível. Tal não aconteceu, como esperado (Figura 53).

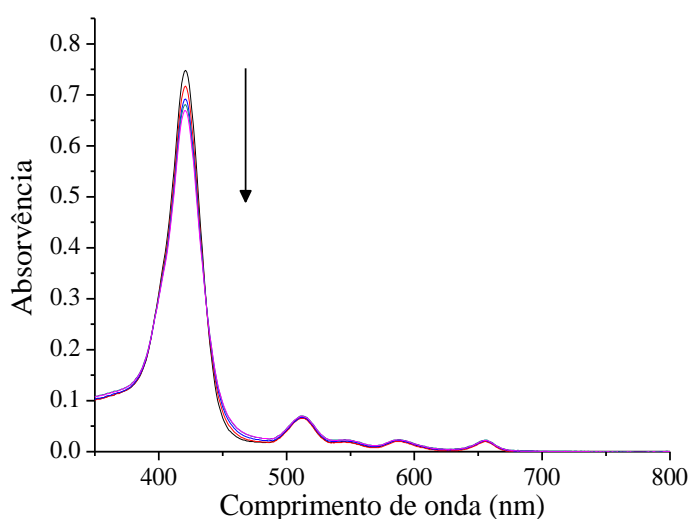


Figura 53 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da porfirina **TPPF₂₀** ($5,00 \times 10^{-6}$ mol.dm⁻³) pela adição de alíquotas de H₂PO₄⁻ ($3,00 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³) em CHCl₃.

3.2.1 Testes de complexação de aniões com porfirinas na forma neutra

Neste ponto descreve-se a titulação das porfirinas **1 – 3** nas suas formas neutras, verificando-se que ocorria variação da intensidade da banda Soret quando foram adicionados os aniões di-hidrogenofosfato, acetato e fluoreto. Aniões como o brometo, cloreto, nitrato e nitrito não provocaram variação significativa. De referir que a interação entre as porfirinas **1 – 3** com o anião di-hidrogenofosfato é muito superior à interação destas com o anião acetato ou fluoreto. Na Figura 54 estão representadas as alterações provocadas no espectro de UV-Vis da porfirina **1** pela adição de H₂PO₄⁻ em CHCl₃, onde também está inserido o tratamento dos dados experimentais a 421 nm. Nas Figura 55 e Figura 56 estão representadas as perturbações causadas pela presença do H₂PO₄⁻ nas porfirinas **2** e **3** e onde também se pode ver o tratamento dos dados experimentais a 421 nm.

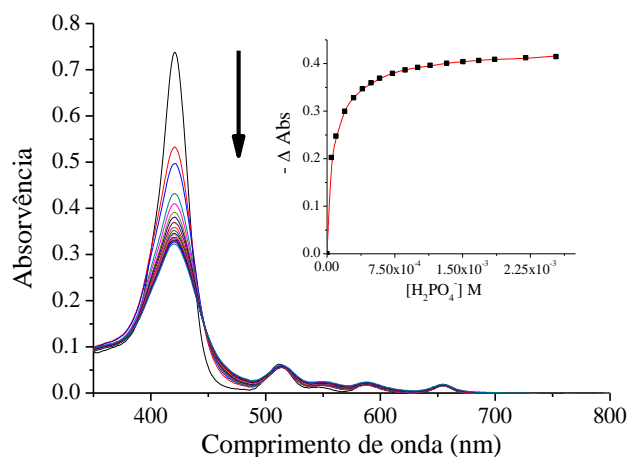


Figura 54 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da porfirina **1** ($4,00 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de H_2PO_4^- ($3,00 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em CHCl_3 . *inset*: tratamento dos dados experimentais a 421 nm.

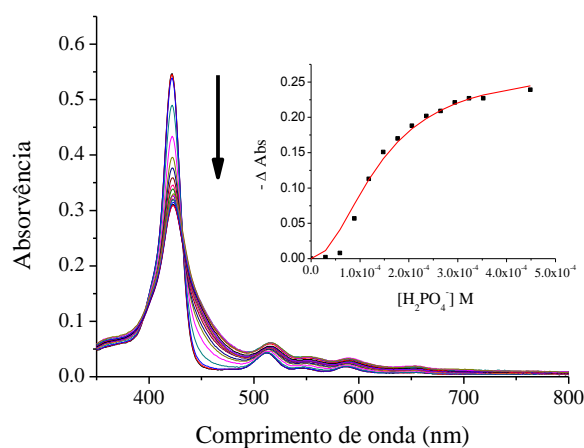


Figura 55 – Alterações provocadas nos espectro de UV-Vis da porfirina **2** ($1,65 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de H_2PO_4^- ($3,00 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em CHCl_3 . *inset*: tratamento dos dados experimentais a 421 nm.

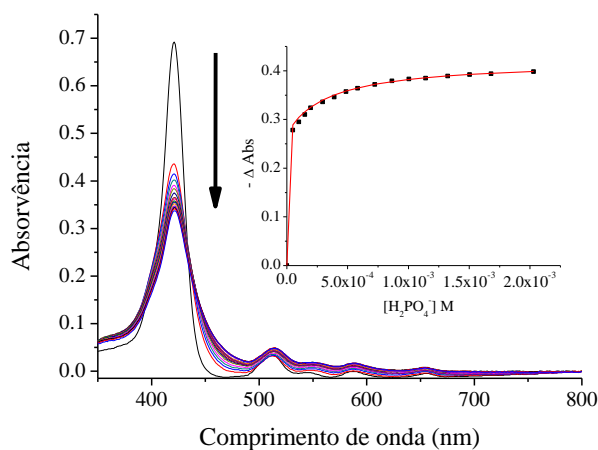


Figura 56 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da porfirina **3** ($3,25 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de H_2PO_4^- ($3,00 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em CHCl_3 . *inset*: tratamento dos dados experimentais a 421 nm.

Nas Figura 57 e Figura 58 estão representados as alterações provocadas nos espectros de UV-Vis das porfirinas **2** e **3** pela adição dos aniões AcO^- e F^- em CHCl_3 , respetivamente.

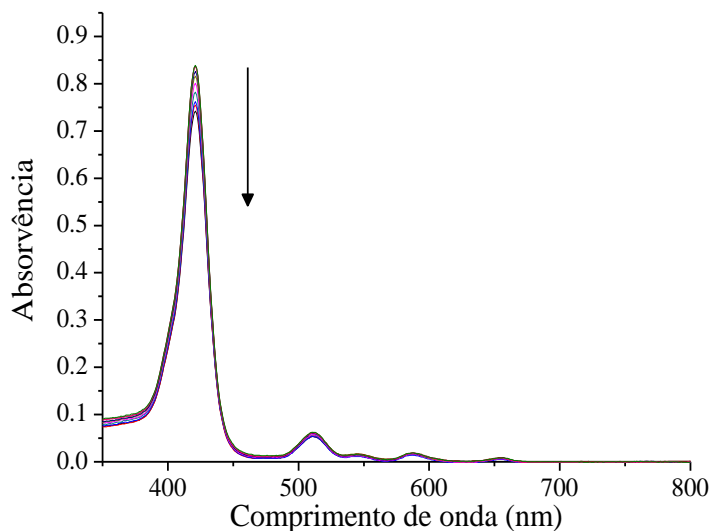


Figura 57 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da porfirina **2** ($1,65 \times 10^{-06} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de AcO^- ($3,80 \times 10^{-02} \text{ mol.dm}^{-3}$) em CHCl_3 .

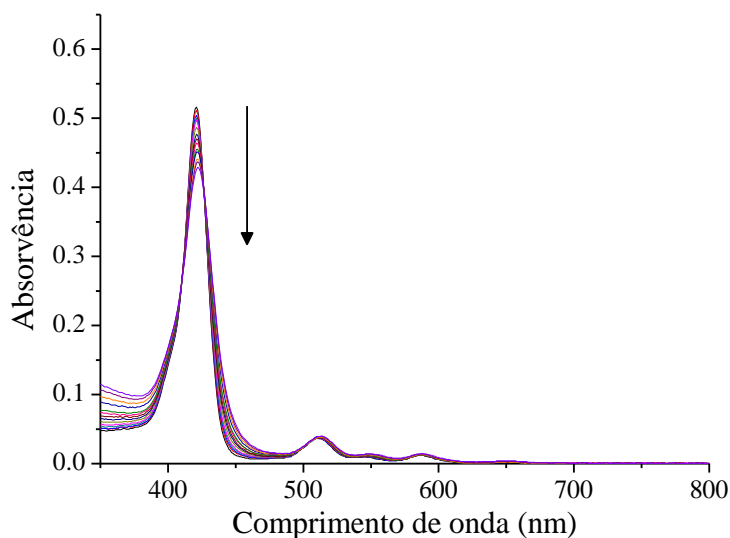


Figura 58 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da porfirina **3** ($3,25 \times 10^{-06} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de F^- ($2,50 \times 10^{-02} \text{ mol.dm}^{-3}$) em CHCl_3 .

Após a análise dos espectros de UV-Vis obtidos, foi selecionado o comprimento de onda onde se verifica uma maior variação da absorvência na banda Soret (421 nm) e foram efetuadas representações gráficas das curvas de titulação para os compostos **1** – **3** permitindo assim determinar o valor de K de cada porfirina em estudo. Os valores das constantes de afinidade total (K , para o anião H_2PO_4^- em CHCl_3) encontram-se resumidos na Tabela 3.

Tabela 3 – Constante de afinidade ($K = K_{11}.K_{12}$) (M^{-2}) correspondente à formação dos complexos porfirina:anião para **1**, **2** e **3** com o anião $H_2PO_4^-$ em $CHCl_3$.

Anião	Solvente	Porfirinas		
		1	2	3
$H_2PO_4^-$	$CHCl_3$	$1,48 \times 10^4$ *	$2,35 \times 10^7$	$5,46 \times 10^9$

* Neste caso a estequiometria é 1:1, sendo a unidade M^{-1} .

Pelo valor de K para a formação dos complexos porfirina:anião podemos afirmar que o quimiossensor que tem uma maior interação com o anião di-hidrogenofosfato é o **3**, pois é o que apresenta uma constante mais elevada. O valor das constantes dos quimiossensores **2** e **3** poderá ser mais elevada devido à maior acidez dos grupos NH em comparação aos NH_2 terminais do quimiossensor **1**. Baseando-nos no ajuste da curva, no caso do quimiossensores **2** e **3**, foi determinada uma estequiometria de 1:2 (quimiossensor:anião). O facto da constante de afinidade apresentar um valor mais baixo quando se utiliza o substituinte tosilo na porfirina, poderá dever-se de facto a diversos fatores, como por exemplo o seu maior volume em relação ao grupo isopropilo. Além de este impedimento estereoquímico é necessário salientar que os prótons dos grupos amina do derivado **3** apresentam valores de desvio químicos superiores o que comprova a sua maior acidez. O aumento de acidez dos prótons tem como consequência o aumento de disponibilidade para formar pontes de hidrogénio.

Das várias tentativas para obter um cristal, para tentar reforçar o conhecimento no tipo de interação que ocorria entre os quimiossensores e os aniões em estado sólido, foi obtido um novo composto (Figura 59), derivado do composto **1**. A imina resultante surgiu por reação de **1** com acetona na presença de HF libertado durante a síntese de **1**.

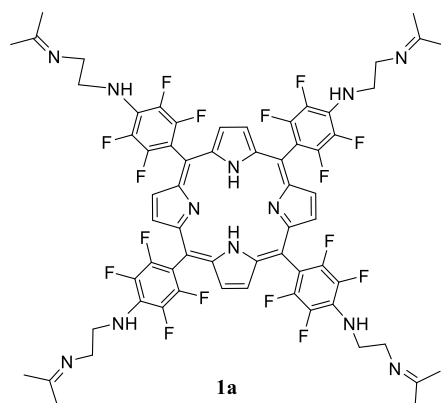


Figura 59 – Composto obtido da reação de **1** com acetona.

Este novo composto foi analisado por difração de raios-X (Figura 60) tendo sido possível verificar a natureza da interação entre o ião fluoreto e a porfirina. Os grupos imina periféricos do composto **1a** encontram-se protonados pelo ácido fluorídrico (HF) formado no meio reacional, encontrando-se a estabelecer pontes de hidrogénio com o anião fluoreto.

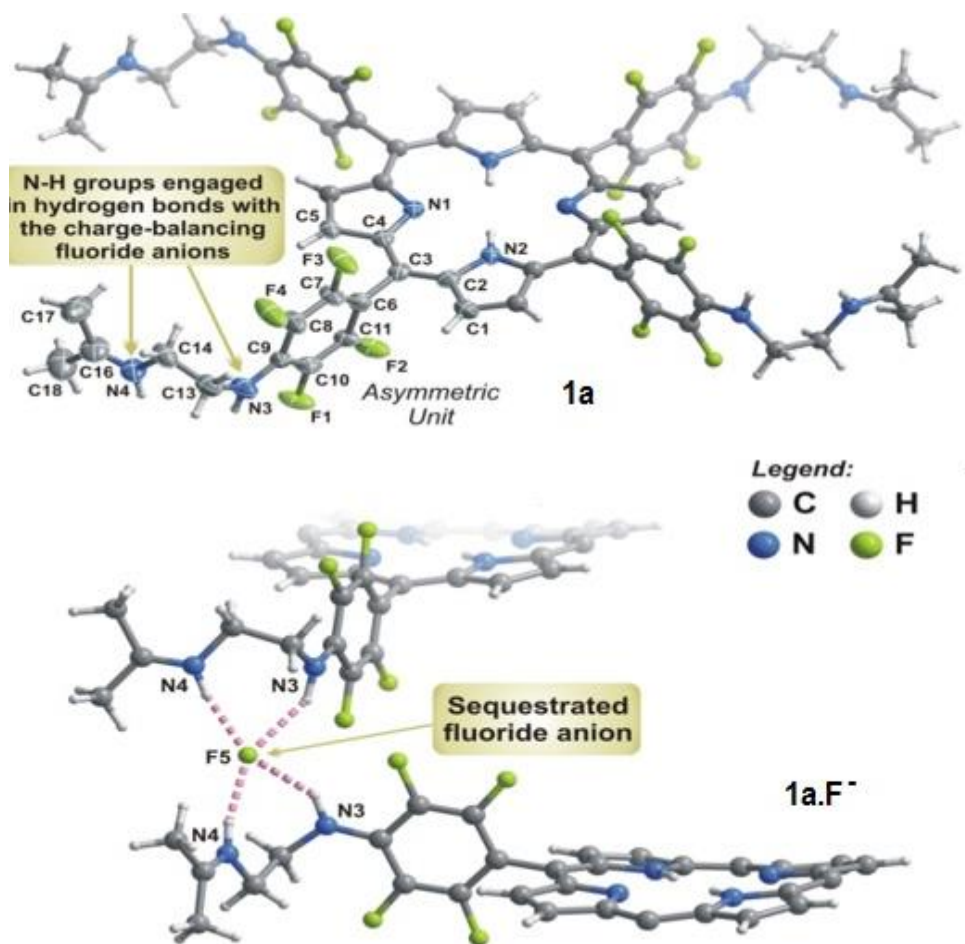


Figura 60 – Estrutura resolvida por cristalografia de raios-X do complexo **1a.F⁻**.⁷⁸

Por forma a conhecer melhor as interações hospedeiro-hóspede envolvendo os quimiossensores **1-3** e o anião H_2PO_4^- , foram também realizadas titulações seguidas por RMN de ^1H . Os estudos foram realizados em $\text{DMSO}-d_6$ ou numa mistura $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$ (1:1). Esta mistura foi escolhida porque os compostos apresentavam baixa solubilidade em clorofórmio (uma vez que para a análise por RMN a concentração do composto é muito superior à necessária para o estudo em UV-Vis) e o DMSO, por si só, apresenta a capacidade de formar pontes de hidrogénio e consequentemente interagir fortemente com os nossos quimiossensores.

Sob estas condições, o composto **1** dá origem a apenas um único sinal NH a cerca de δ 5,75 ppm, que é atribuído aos grupos amino aromáticos. Este sinal tem um deslocamento na presença do anião H_2PO_4^- (Figura 61), como já se esperava, pois estamos perante um grupo dador de eletrões interagindo com uma base de Lewis. É possível também verificar que não há qualquer alteração dos NH internos a δ - 2,95 ppm.

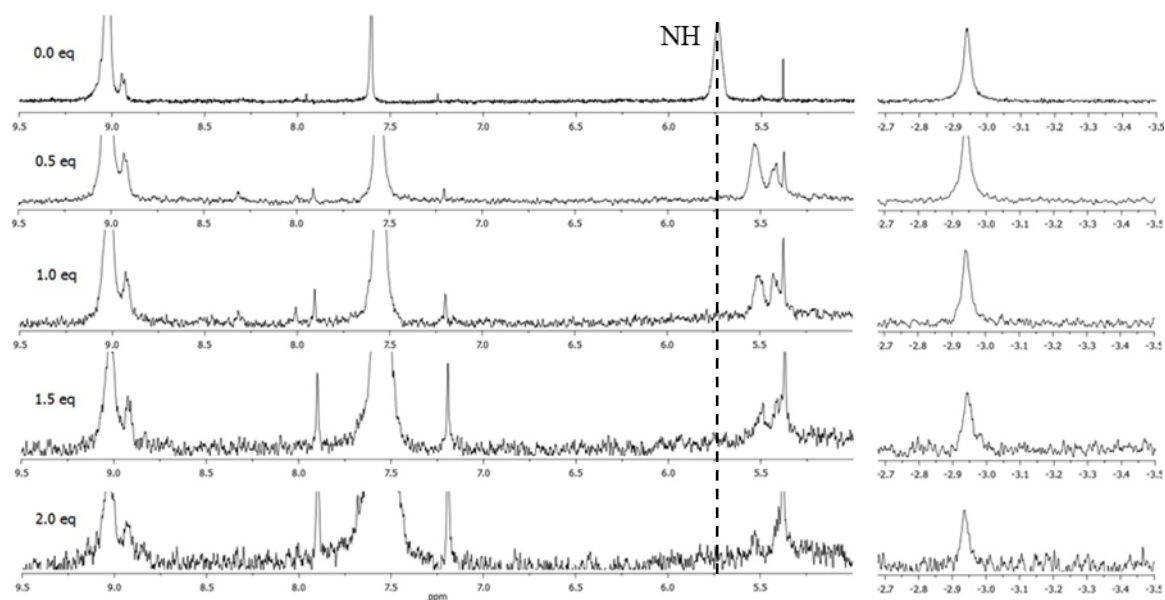


Figura 61 – Espetro parcial de RMN de ¹H do composto **1** (0,005 mol.dm⁻³) em CDCl₃/DMSO-*d*₆ (1:1) com adições sucessivas desde 0,0 equiv. a 2,0 equiv. de H₂PO₄⁻ (0,055 mol.dm⁻³) em DMSO-*d*₆.

No caso da porfirina **2**, a desprotonação dos prótons do grupo NH-tosilo ocorre com a adição de 0,5 equiv. de anião H_2PO_4^- , conforme podemos verificar com o desaparecimento do sinal, na forma de triplete, a δ 7,5 ppm (Figura 62). Depois da desprotonação, o sinal do NH aromático que está a δ 5,4 ppm, começa a desviar-se à medida que a concentração do anião H_2PO_4^- aumenta, muito provavelmente devido ao aumento da presença de interações por pontes de hidrogénio.

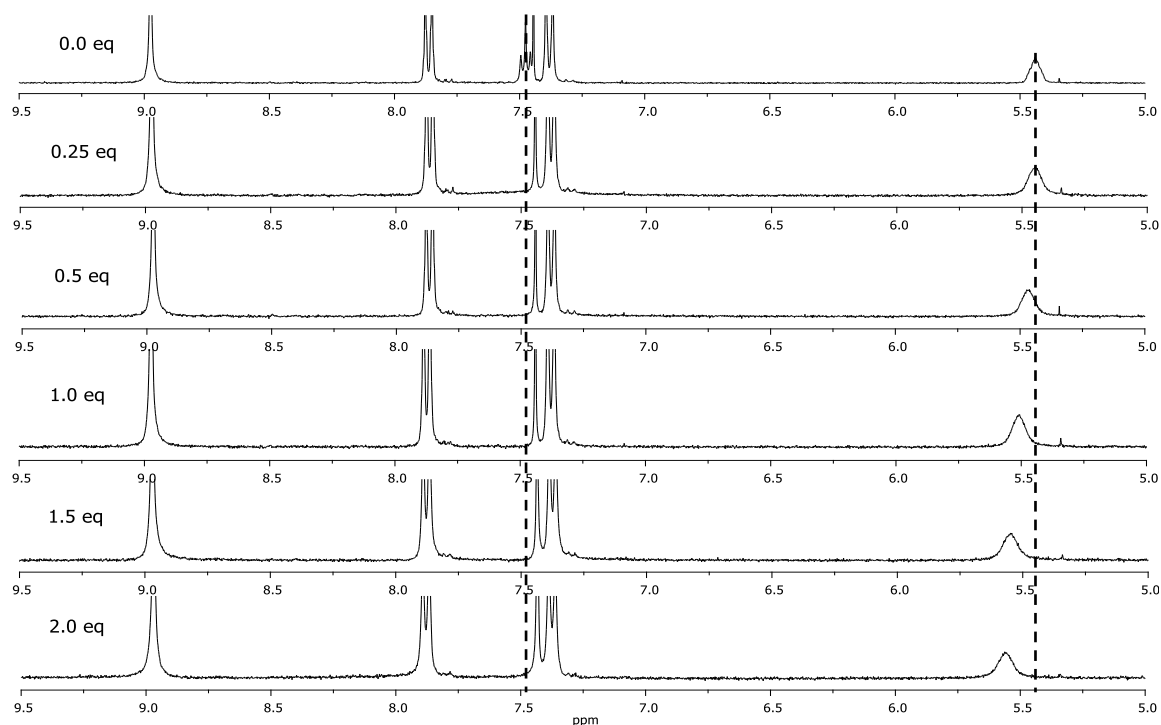


Figura 62 – Espetro parcial de RMN de ^1H do composto **2** ($0,003 \text{ mol.dm}^{-3}$) em $\text{CDCl}_3/\text{DMSO-}d_6$ (1:1) com adições sucessivas desde 0,0 equiv. a 2,0 equiv. de H_2PO_4^- ($0,055 \text{ mol.dm}^{-3}$) em $\text{DMSO-}d_6$.

O quimiossensor **3** tem um comportamento similar ao observado em **2**. Aqui, a desprotonação dos prótons NH-isopropílicos (inicialmente a δ 9,6 ppm) ocorre simultaneamente com uma mudança dos outros prótons NH (que tem ressonância a δ 6,3 ppm) como se pode ver na Figura 63.

Foram ainda realizadas titulações de RMN de ^1H com outros aniões, tal como o acetato ou o fluoreto, mas não se verificou nenhuma alteração nos desvios dos sinais NH, mas sim a perda de resolução do espectro de RMN de ^1H , que com cada adição de alíquotas de anião ia aumentando.

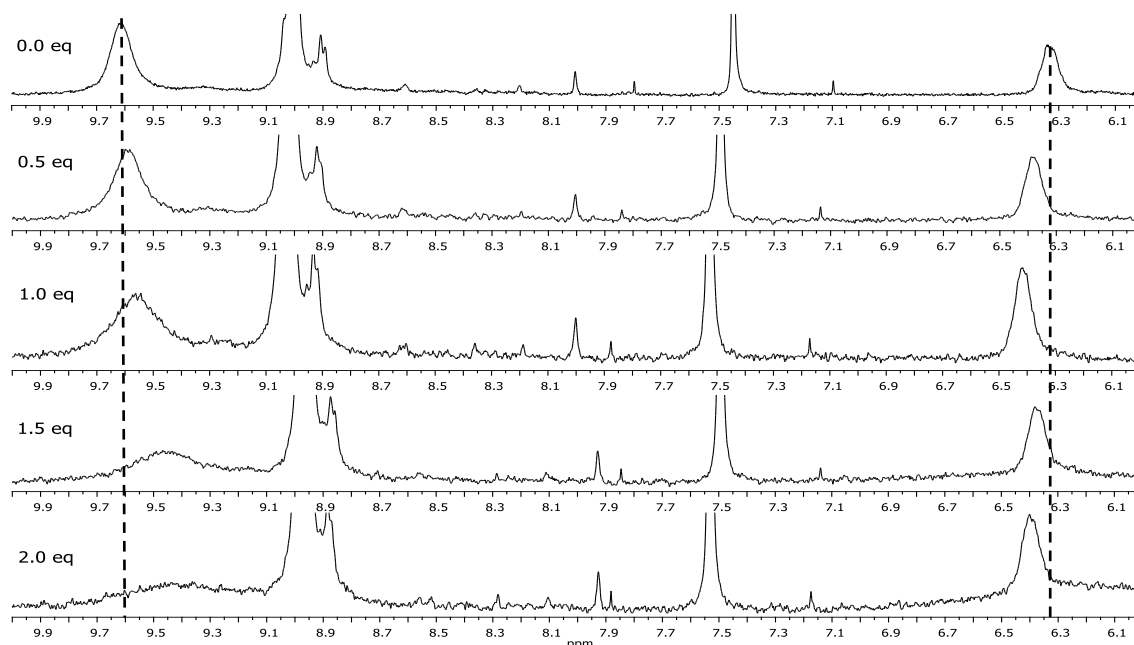


Figura 63 – Espetro parcial de RMN de ^1H do composto **3** ($0,0018 \text{ mol.dm}^{-3}$) em $\text{CDCl}_3/\text{DMSO-}d_6$ (1:1) com adições sucessivas desde 0,0 equiv. a 2,0 equiv. de H_2PO_4^- ($0,055 \text{ mol.dm}^{-3}$) em $\text{DMSO-}d_6$.

3.2.2 Testes de complexação de aniões com porfirinas na forma protonada

Para estudar a melhor afinidade dos nossos quimiossensores com os aniões e sabendo pela difração de raios-X que a porfirimina **1a** interage com o anião fluoreto com os grupos imina protonados (grupos na periferia do macrociclo), protonaram-se os NH externos das porfirinas, por tratamento das soluções stock com 4 equivalente de TFA. A adição destes 4 equivalentes apenas protona os NH externos, não protonando os NH pirrólicos, uma vez que não se verifica no espectro de absorvência o desvio batocrômico da banda Soret da porfirimina. Como se pode verificar pela Figura 64 a protonação dos NH pirrólicos no interior da porfirimina provoca grandes alterações no espectro. Na Figura 64 está representado o espectro de absorção do composto **1** neutro e **1** com os NH externos protonados, em que ambos apresentam uma banda Soret a 421 nm e quatro bandas Q. Na Figura 64 está também representado o espectro de UV-Vis do composto **1** totalmente protonado e que se pode verificar que apresenta a banda Soret desviada para cerca dos 470 nm e tem apenas uma banda Q. Os restantes compostos estudados apresentam o mesmo comportamento quando protonados.

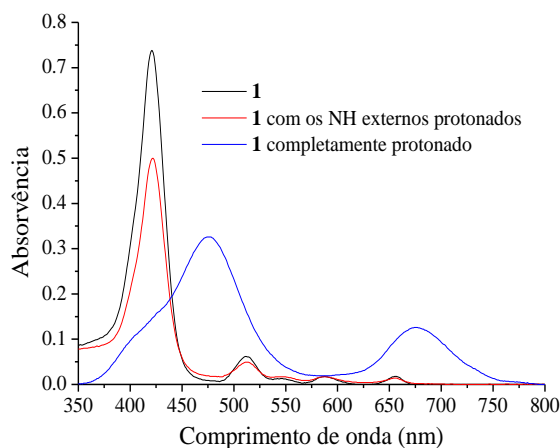


Figura 64 – Espectro de absorção do composto **1** nas suas formas: neutra (preto), protonada nos NH externos (vermelho) e totalmente protonada (azul) em clorofórmio.

Como efetuado com os quimiossensores na forma neutra, efetuou-se também a titulação das porfirinas **1–3** na forma protonada. A protonação dos NH externos das porfirinas, faz com que os hidrogénios sejam prótons labéis, facilitando assim a interação com os aniões. Também neste caso ocorreu a variação da banda Soret quando foram utilizados os aniões acetato, fluoreto e di-hidrogenofosfato. Os aniões que não mostraram qualquer interação nas porfirinas na forma neutra como o brometo, cloreto, nitrato e nitrito não apresentaram nenhuma variação significativa com as porfirinas protonadas.

Nas Figura 65 a Figura 67 estão representadas as alterações provocadas nos espectros de UV-Vis das porfirinas **1–3** pela adição de H_2PO_4^- em CHCl_3 , onde também está inserido o tratamento dos dados experimentais a 421 nm.

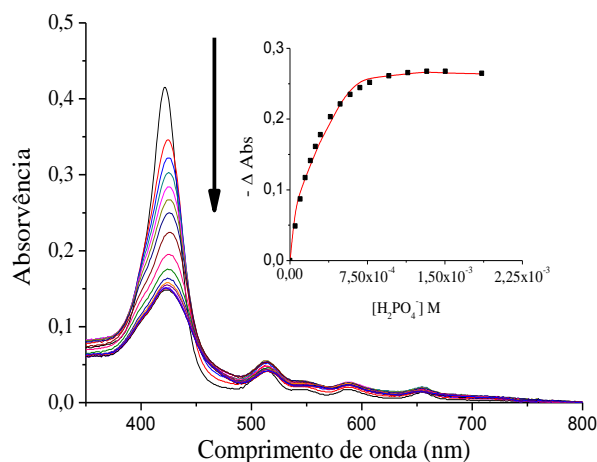


Figura 65 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da porfirimina **1** ($4,45 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) protonada pela adição de alíquotas de H_2PO_4^- ($3,00 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em CHCl_3 . *inset*: tratamento dos dados experimentais a 421 nm.

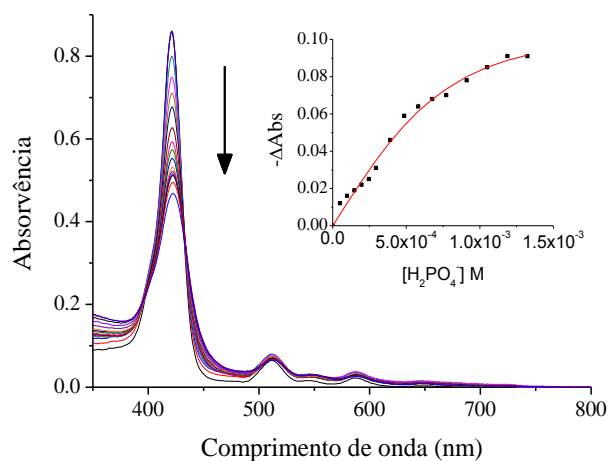


Figura 66 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da porfirimina **2** ($2,65 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) protonada pela adição de alíquotas de H_2PO_4^- ($3,00 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em CHCl_3 . *inset*: tratamento dos dados experimentais a 421 nm.

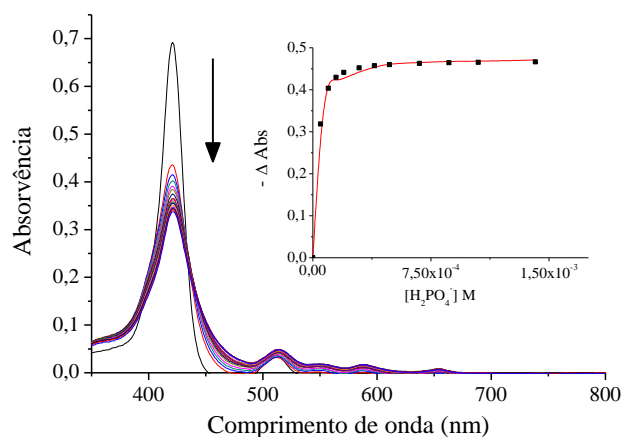


Figura 67 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da porfirimina **3** ($3,60 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) protonada pela adição de alíquotas de H_2PO_4^- ($3,00 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em CHCl_3 , *inset*: tratamento dos dados experimentais a 421 nm.

Podemos verificar que com os aniões AcO^- e F^- há uma maior interação com o quimiossensor protonado do que neutro. Isto ocorre do mesmo modo para os três quimiossensores. As alterações provocadas nos espectros de UV-Vis dos quimiossensores pela adição de anião fluoreto são superiores às do anião acetato. No entanto, ainda que superiores, as alterações nos espectros revelaram-se insuficientes para efetuar o cálculo de K , uma vez que poderia levar a valores de K com erros significativos.

O aumento de interação entre os quimiossensores e os aniões estudados pode ser facilmente explicado pelo aumento de protões disponíveis para efetuar interações por pontes de hidrogénio. É importante salientar que a protonação destes grupos amina aumenta a acidez dos protões e consequentemente a capacidade de interação com os aniões. Facto bem

visível no caso do quimiossensor **1**, que apresenta uma estequiometria de Por:anião (1:1) na forma neutra e com a protonação passa a apresentar uma estequiometria de Por:anião (1:2). Novamente e após a análise dos espectros de UV-Vis obtidos, foi selecionado o comprimento de onda máximo (421 nm) e foram efetuadas representações gráficas das curvas de titulação para os compostos **1–3** permitindo assim determinar os valores de K para os novos quimiossensores protonados em estudo. Na Tabela 4 encontram-se os valores das constantes de afinidade total (K) das porfirinas **1–3** para o anião H_2PO_4^- em CHCl_3 .

Tabela 4 – Constante de afinidade ($K = K_{11}.K_{12}$) (M^{-2}) correspondente à formação dos complexos porfirina:anião para **1**, **2** e **3** nas formas neutra e protonada com o anião H_2PO_4^- em CHCl_3 .

Anião	Forma	Porfirinas		
		1	2	3
H_2PO_4^-	Neutra	$1,48 \times 10^4 *$	$2,35 \times 10^7$	$5,46 \times 10^9$
	Protonada	$2,95 \times 10^5$	$6,21 \times 10^7$	$1,62 \times 10^9$

* Neste caso a estequiometria é 1:1, sendo a unidade M^{-1}

Tal como na forma neutra, o quimiossensor que apresenta uma maior interação com o anião H_2PO_4^- é o quimiossensor **3**. De forma a verificar se o comportamento dos quimiossensores protonados era idêntico aos na forma neutra realizaram-se também os estudos em RMN ^1H numa mistura de $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$ (1:1) onde se verificou que os resultados foram muito semelhantes aos reportados anteriormente nas formas neutras.

No caso do composto **2** protonado a variação observada no espectro de RMN de ^1H devido à adição do anião é semelhante ao da forma neutra, verificando-se primeiro uma desprotonação e só depois é que ocorre interação com o anião. Também no quimiossensor **3** quando protonado os desvios observados são muito idênticos, no caso do sinal a δ 9,7 ppm onde ocorre um desvio para valores de ppm inferiores e no sinal a δ 6,45 ppm ocorre um desvio para valores de ppm mais elevados quando se titula com o anião (Figura 68). O desvio destes dois sinais provam a interação do quimiossensor com o anião titulado.

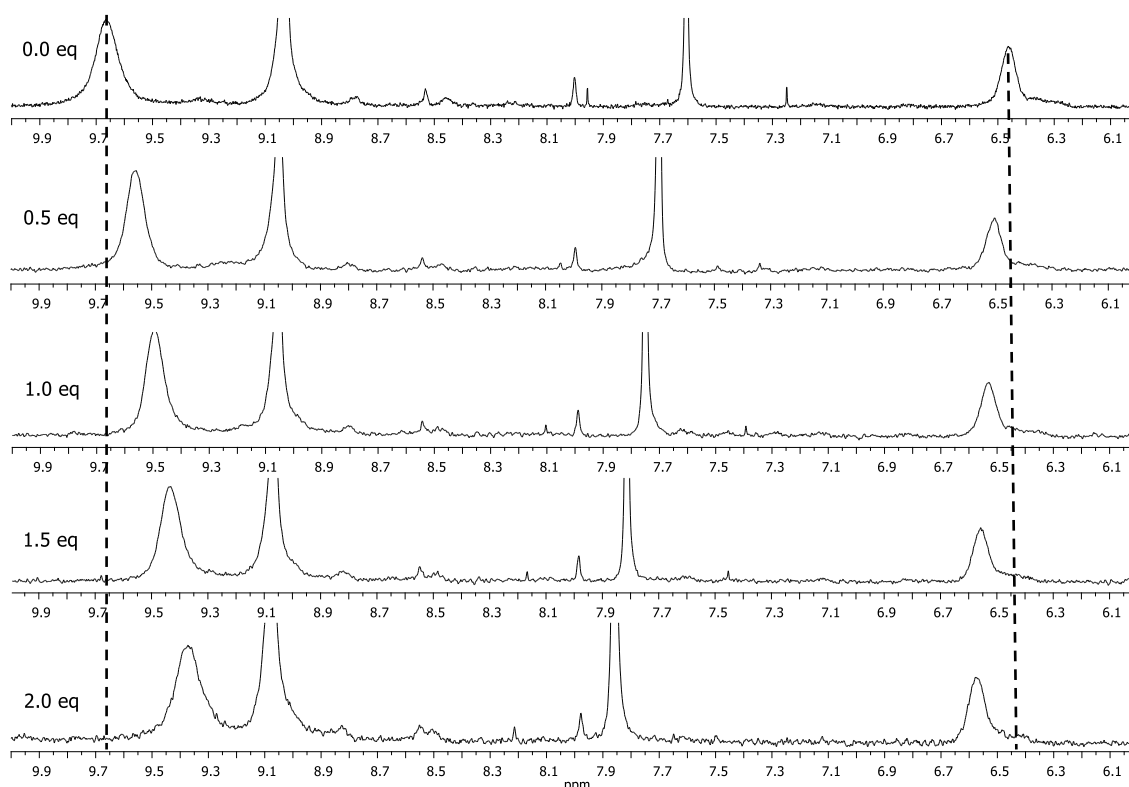


Figura 68 – Espectro parcial de RMN de ^1H do composto **3** ($0,0018 \text{ mol.dm}^{-3}$) protonado em $\text{CDCl}_3/\text{DMSO-}d_6$ (1:1) com adições sucessivas desde 0,0 equiv. a 2,0 equiv. de H_2PO_4^- ($0,055 \text{ mol.dm}^{-3}$) em $\text{DMSO-}d_6$.

3.2.3 Estudo de complexação de aniões com porfirinas em soluções aquosas*

A fim de testar a capacidade dos quimiossensores porfirínicos **1–3** para interagir com aniões em soluções aquosas, cristais de quartzo piezoelétricos com elétrodos de ouro foram revestidos pelas porfirinas **1–3**. Este revestimento foi possível pelo facto destes compostos porfirínicos serem insolúveis em água e quimicamente estáveis ao longo do tempo, tanto em solução como quando revestidos sobre uma superfície de ouro. Os testes de capacidade de reconhecimento e seletividade dos aniões foram realizados da seguinte forma: soluções aquosas de vários aniões de sais de sódio (10^{-1} a $5 \times 10^{-3} \text{ M}$) a um pH de 9,7 eram injetadas num fluxo de água ajustado para o mesmo pH. Este fluxo fez-se passar através da célula do sensor com um fluxo de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ (Figura 69).

* Estudos e resultados gentilmente cedidos pela Professora Maria Teresa S. R. Gomes e pelo Mestre Paulino Muteto, apresentados aqui, única e exclusivamente, para ajudar a interpretar os resultados finais obtidos com os quimiossensores descritos no capítulo anterior.

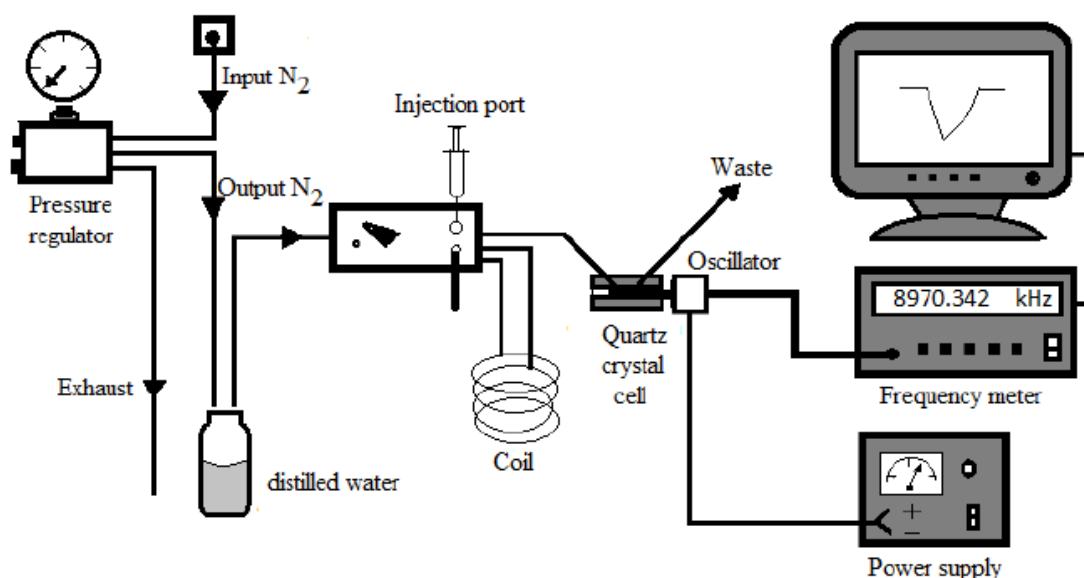


Figura 69 – Representação esquemática do sistema de injeção contendo um cristal de quartzo revestido com as porfirinas 1–3.⁷⁸

Com base na resposta observada, os coeficientes de seletividade foram calculados em relação ao anião HPO_4^{2-} (Figura 70). Pela análise de dados é evidente que o sensor revestido com a porfirina 1 é o mais seletivo para HPO_4^{2-} .

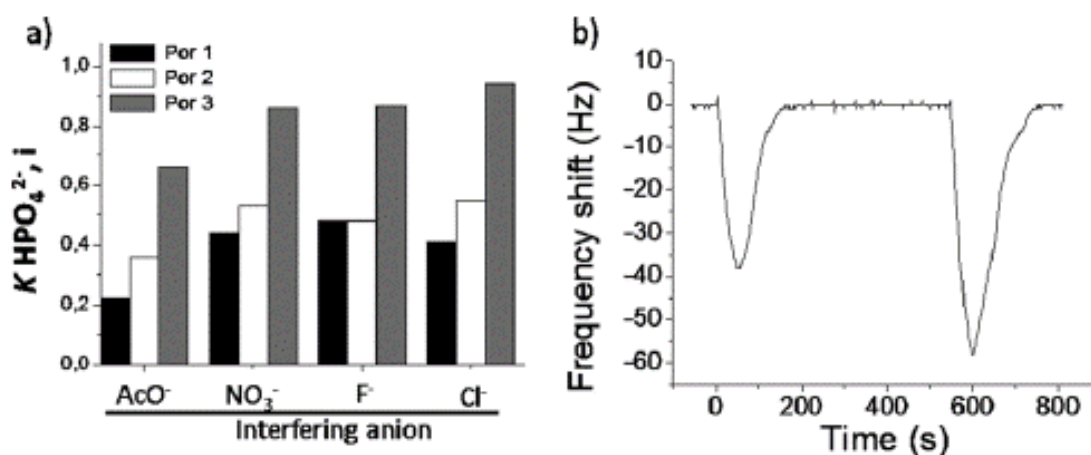


Figura 70 – (a) coeficientes de seletividade dos sensores feitos com as porfirinas 1-3, calculados em relação ao HPO_4^{2-} . b) Variação das frequências para o sensor composto pela porfirina 2 após a exposição de soluções aquosas de Na_2HPO_4 a $1,00 \times 10^{-3}$ e $1,50 \times 10^{-3}$ M.

A utilização de soluções com pH elevado nestas experiências foi intencional, tendo como objetivo evitar a formação de outro tipo de espécies como por exemplo, a presença de ambos os aniões HPO_4^{2-} e H_2PO_4^- em solução. No entanto, a viabilidade dos elétrodos como

quimiossensor de aniões foi testada usando o anião fluoreto num intervalo de pH entre 6,7 e 9,7 (Figura 71), não se tendo observado diferenças significativas. Além disso, a resposta foi rápida e reversível nos três sensores, conforme ilustrado na Figura 70 b).

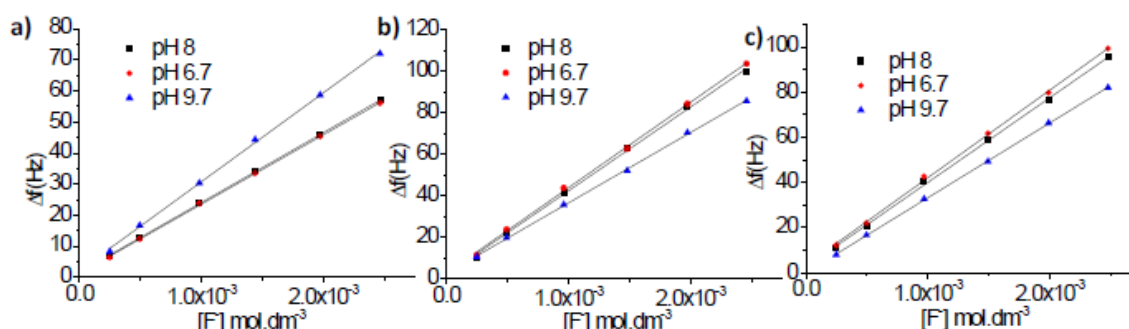


Figura 71 – Efeito do pH sobre a resposta dada pelos sensores para o anião fluoreto (em forma de sal de sódio) a) **1**; b) **2**; c) **3**.

3.2.4. Conclusões

Ao longo deste subcapítulo foi estudado a capacidade dos macrociclos porfirínicos interagirem com diferentes aniões. Para estudar a interação dos quimiossensores com os aniões foram utilizados dois métodos espectroscópicos, UV-Vis e RMN de ^1H . Com este estudo concluímos que os quimiossensores sintetizados **1–3** apresentam a capacidade de interagir com aniões, sendo maioritariamente seletivos para o anião di-hidrogenofosfato. Através dos diferentes estudos é possível verificar que estes quimiossensores porfirínicos interagem principalmente pelos grupos amino externos e não pelo núcleo interno da porfirimina.

Com exceção do quimiossensor **1**, que apresenta uma estequiometria de 1:1 (quimiossensor:anião), os compostos estudados apresentam uma estequiometria 1:2 (quimiossensor:anião). Aplicando o método direto foi possível obter valores de K efetivos. Na forma neutra o composto **1** tem uma $K_a = 1,48 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (estequiometria 1:1) para o $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$ enquanto os compostos **2** e **3** têm uma $K_a = 2,35 \times 10^7$ e $5,46 \times 10^9 \text{ M}^{-2}$, respetivamente. Nas formas protonadas, os quimiossensores **1, 2** e **3** apresentam K de afinidade para o $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$ de $2,95 \times 10^5$, $6,21 \times 10^7$ e $1,62 \times 10^9 \text{ M}^{-2}$, respetivamente. O quimiossensor **3** é o que apresenta as constantes de afinidade mais elevadas.

Além disso, quando estes quimiossensores são incorporados num sensor de quartzo piezoelétrico, os compostos **1–3** mostram elevada seletividade em meio aquoso para HPO_4^{2-} , apresentando uma resposta bastante inferior para os restantes aniões.

Foi ainda possível aprofundar o conhecimento sobre as principais interação dos quimiossensores aos aniões por analogia com o resultado de cristalografia de raio-X do complexo **1a**•F⁻.

3.3 Testes de complexação de aniões com quimiossensores ftalocianínicos

Após estudar a primeira família de quimiossensores baseados em compostos porfirínicos, efetuaram-se os estudos dos quimiossensores ftalocianínicos. Estes foram realizados utilizando novamente espectroscopia UV-Vis e os solventes escolhidos foram o THF e o DMSO. Como descrito anteriormente, estes dois solventes foram os escolhidos porque são os que menos e mais interagem com os quimiossensores, respetivamente. As titulações foram realizadas usando soluções stock de cada ftalocianina **12-14** às quais foram adicionadas alíquotas de uma solução de anião. As titulações foram seguidas através das perturbações causadas pela presença dos aniões na banda Q das ftalocianinas. Estas variações na absorvência foram usadas para determinar as constantes de afinidade pelo método dos mínimos quadrados, usando uma equação de 1:1 ou 1:2. Os testes foram realizados em THF e DMSO a 22 °C. As titulações foram repetidas 3 vezes por cada ensaio e foi determinado uma margem de reprodutibilidade num intervalo de 15-20%. Efetuou-se o estudo com diferentes aniões, tais como acetato, brometo, cianeto, cloreto, hidrogenossulfato, di-hidrogenofosfato, fluoreto, nitrato e nitrito, todos na forma de sais de tetrabutilamónio. Tal como o trabalho reportado anteriormente, neste caso também se fez um estudo com uma ftalocianina sem nenhum grupo amina na periferia do anel do macrociclo mas complexada com zinco. Tal como esperado, não se verificou qualquer variação significativa no espectro de visível aquando da adição de alíquotas de anião.⁹⁵

3.3.1 Estudos de absorção com os quimiossensores para vários aniões

Para a determinação das constantes de afinidade foram feitas soluções de quimiossensores **12-14** em DMSO, todas com a concentração na mesma ordem de grandeza (10^{-6} mol·dm⁻³) às quais foram adicionadas alíquotas de diferentes aniões e registados os espectros de UV-Vis. A adição de AcO⁻, CN⁻, F⁻, NO₂⁻ e H₂PO₄⁻ (em forma de sais de TBA) resultou em alterações muito significativas nos espectros de UV-Vis em todos os quimiossensores estudados. Para os quimiossensores complexados com metal, Pc **12** e **14**, a banda de absorção a 688 nm vai desaparecendo e uma nova banda de absorção a 740 nm é

formada (Figura 72). No entanto a adição destes aniões durante a titulação apresentam uma variação muito semelhante por UV-Vis entre eles, exceto para o NO_2^- que é possível distinguir dos anteriores como se pode verificar na Figura 73. Neste caso o desvio para comprimentos de onda maiores não é tão intenso. Para o caso da Pc livre **13** a banda desdobrada Q (a 680 e 710 nm) desaparece e uma nova banda é formada a 770 nm (Figura 74).

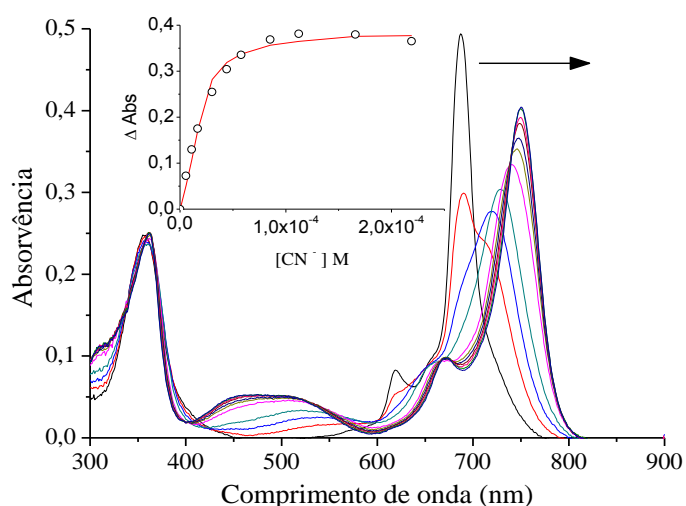


Figura 72 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da Pc **12** ($2,8 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de CN^- ($8,3 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$) em THF; *inset*: tratamento dos dados experimentais a 772 nm.

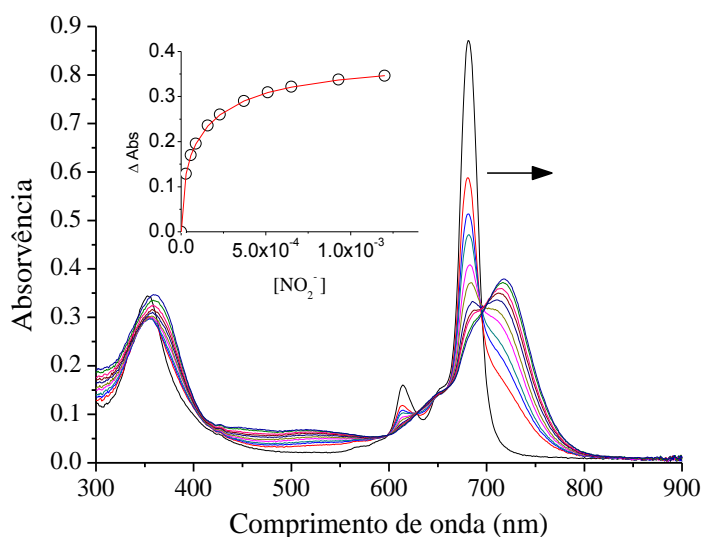


Figura 73 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da Pc **14** ($3,7 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de NO_2^- ($4,30 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em THF; *inset*: tratamento dos dados experimentais a 742 nm.

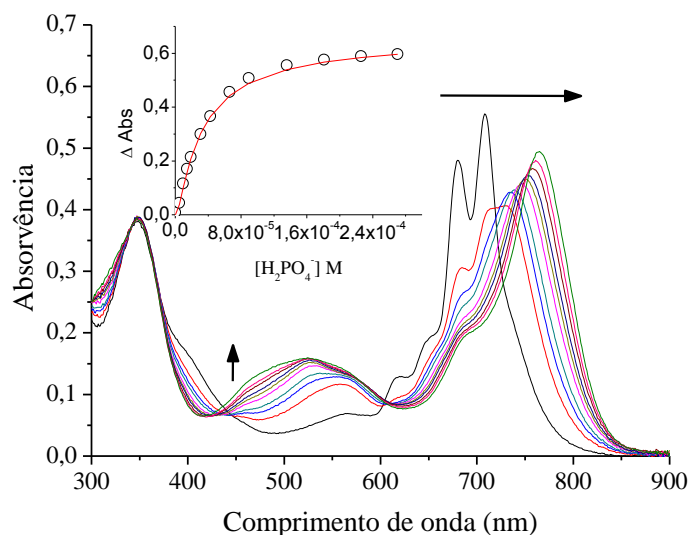


Figura 74 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da Pc **13** ($5,4 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de H_2PO_4^- ($7,15 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$) em THF; inset: tratamento dos dados experimentais a 770 nm.

No entanto a adição de Br^- , Cl^- , NO_3^- e H_2SO_4^- (em forma de sais de TBA) não induziu qualquer alteração no espectro de UV-Vis destes quimiossensores. A adição destes aniões não promoveu alterações nas propriedades eletrônicas das ftalocianinas, o que é facilmente observado pela ausência de alteração nas bandas de absorção das Pc **12** e **14** a 688 nm (Figura 75) nem na banda Q desdobrada a 680 e 710 nm da Pc **13** (Figura 76).

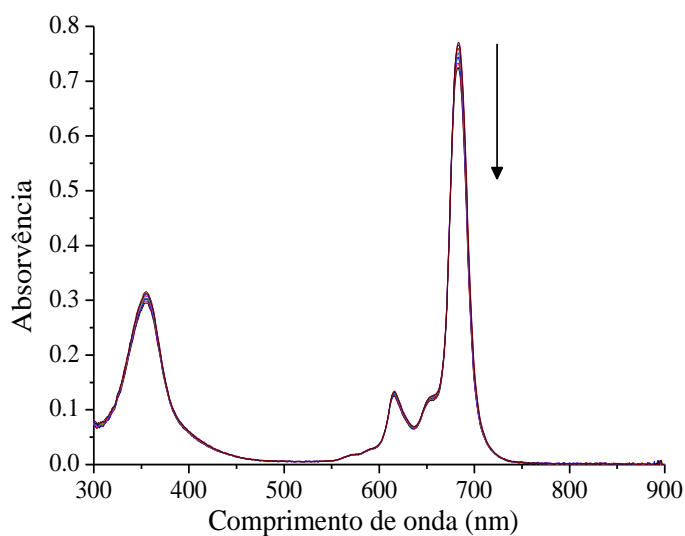


Figura 75 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da Pc **12** ($2,8 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de Br^- ($3,45 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em THF.

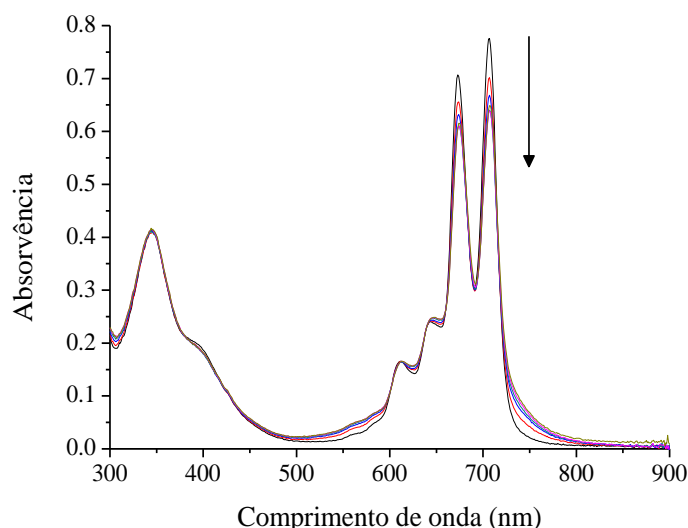


Figura 76 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis da Pc **13** ($5,4 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de Cl^- ($4,3 \times 10^{-02} \text{ mol.dm}^{-3}$) em THF.

Pela variação de absorção em função da concentração do anião, a um comprimento de onda específico de cada titulação, foi possível calcular o valor das constantes de afinidade. A Tabela 5 contém os valores de K das Pcs **12–14** com os aniões acetato, cianeto, fluoreto, nitrito e di-hidrogenofosfato em THF e DMSO. Após utilização de equações não lineares para complexos de estequiometria 1:1 e 1:2 (quimiossensor:anião) foi possível verificar que os valores dos resíduos eram mais elevados para a estequiometria 1:1, tendo a estequiometria 1:2 a curva que melhor se ajusta ao modelo matemático.

Tabela 5 – Valores de K (M^{-2}) a 22°C para as Pc **12–14** com diferentes aniões em THF e DMSO.

	Pc 12		Pc 13		Pc 14	
	THF	DMSO	THF	DMSO	THF	DMSO
AcO^-	$6,43 \times 10^{10}$	$2,81 \times 10^9$	$3,86 \times 10^9$	$4,64 \times 10^8$	$1,69 \times 10^{10}$	$2,96 \times 10^8$
CN^-	$7,77 \times 10^9$	$2,35 \times 10^9$	$2,65 \times 10^9$	$9,29 \times 10^8$	$1,67 \times 10^9$	$9,36 \times 10^8$
F^-	$7,40 \times 10^9$	$4,72 \times 10^9$	$3,79 \times 10^9$	$3,43 \times 10^8$	$7,65 \times 10^9$	$3,39 \times 10^8$
H_2PO_4^-	$2,55 \times 10^9$	$1,89 \times 10^9$	$6,65 \times 10^8$	$2,16 \times 10^8$	$4,59 \times 10^9$	$3,39 \times 10^8$
NO_2^-	$2,27 \times 10^8$	$3,34 \times 10^7$	$6,46 \times 10^8$	$2,81 \times 10^6$	$2,52 \times 10^8$	$6,96 \times 10^6$

Comparando as constantes de afinidade mostrados na Tabela 5, pode-se concluir que para todas as ftalocianinas sintetizadas, as constantes de afinidade são mais elevadas em THF do que em DMSO, o que se deve ao fato do DMSO apresentar uma elevada capacidade de interação com moléculas através de formação de pontes de hidrogénio. O estabelecimento

destas pontes de hidrogénio diminuem a interação com os aniões, uma vez que os grupos capazes de formar este tipo de ligação já se encontram “ocupados”. Estes resultados são concordantes com os obtidos com o trabalho anterior desenvolvido pelo nosso grupo de investigação.⁹⁵ Apesar da Pc **12** apresentar apenas quatro grupos tosilamino, metade do número de grupos tosilamino da ftalocianina reportada anteriormente, as constantes de afinidade obtidas foram similares para ambos os trabalhos de investigação. Em ambos os solventes, as constantes de afinidade para as ftalocianinas complexadas com iões metálicos (Pc **12** e Pc **14**) são mais elevadas do que as constantes de afinidade da ftalocianina de base livre, Pc **13**, resultado este impulsionado principalmente pela coordenação axial entre os aniões (espécie rica em eletrões) e os átomos de metal no centro da ftalocianina.^{189,190}

As alterações macroscópicas dos quimiossensores em solução foram registadas em ambos os solventes e estão em concordância com os valores encontrados com as constantes de afinidade calculadas. Durante as titulações dos quimiossensores **12-14** estes mostraram uma mudança de cor drástica do verde para o violeta (AcO^- , F^- , NO_2^- e H_2PO_4^-) ou para amarelo no caso das Pcs **12** e **14** (CN^-), sendo estas mudanças de cor facilmente detetadas a olho nu. A introdução do metal no macrociclo de base livre, Pc **13**, faz com que as alterações de cor em solução se tornassem mais expressivas, tornando possível a discriminação dos diferentes aniões, tais como fluoreto e cianeto. Por outro lado, o anião nitrito pode ser detetado a olho nu com o quimiossensor **13**, uma vez que as soluções da Pc **13** quando interagem com quase todos os diferentes aniões passam para um tom vermelho, enquanto com a adição do anião nitrito a cor passa de verde para um tom violeta (Figura 77).

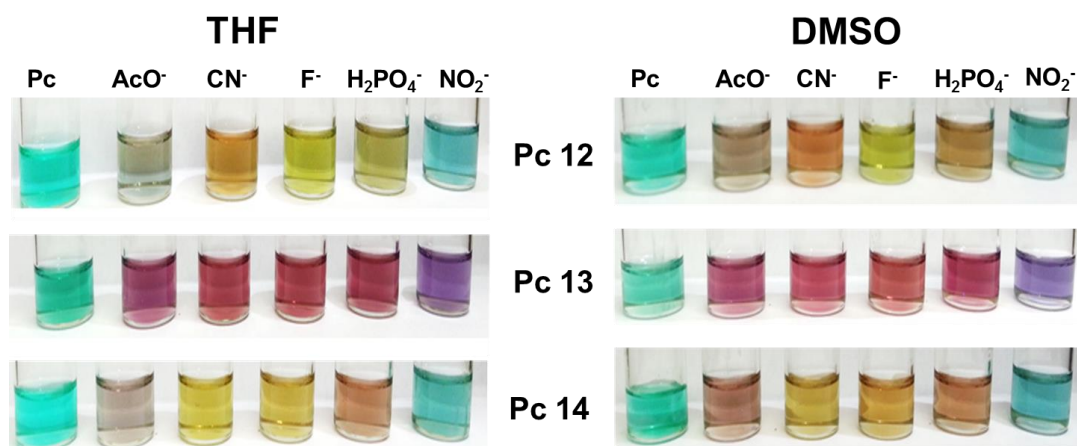


Figura 77 – Alteração de cor observada após a adição em excesso de diferentes aniões às soluções de Pc **12-14** ($[\mathbf{12}] = 2,8 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$; $[\mathbf{13}] = 5,4 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$; $[\mathbf{14}] = 3,7 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) em THF (esquerda) e DMSO (direita).

3.3.2 Titulação por RMN

Para compreender as principais interações que podem ocorrer entre os quimiossensores e os aniões, foram realizadas titulações em RMN de ^1H da Pc **12** com CN^- e F^- em $\text{DMSO-}d_6$. A um tubo de RMN com uma solução de Pc **12** em $\text{DMSO-}d_6$ foram adicionadas alíquotas de uma solução de CN^- em $\text{DMSO-}d_6$. Após agitação vigorosa os espectros foram adquiridos. Repetiu-se o mesmo processo para o F^- . As variações espectrais que ocorreram durante a titulação entre a Pc **12** e CN^- estão mostrados na Figura 78.

A partir da Figura 78, é evidente que a adição de alíquotas de até 1 equiv. de CN^- leva à desprotonação dos grupos NH-tosilo (desaparecimento do sinal em forma de singuleto a δ 11,2 ppm). Após a desprotonação, os sinais correspondentes aos β -H (a cerca de δ 7,9 ppm) e aos α -H (δ 9,1 ppm e 9,2 ppm) começam a ter deslocamentos para valores de desvios mais baixos quando a concentração de CN^- aumenta, presumivelmente devido a interações por pontes de hidrogénio ou de uma nova conformação das moléculas em solução. Como esperado, os sinais correspondentes aos prótons dos grupos tosilo não sofreram alteração.

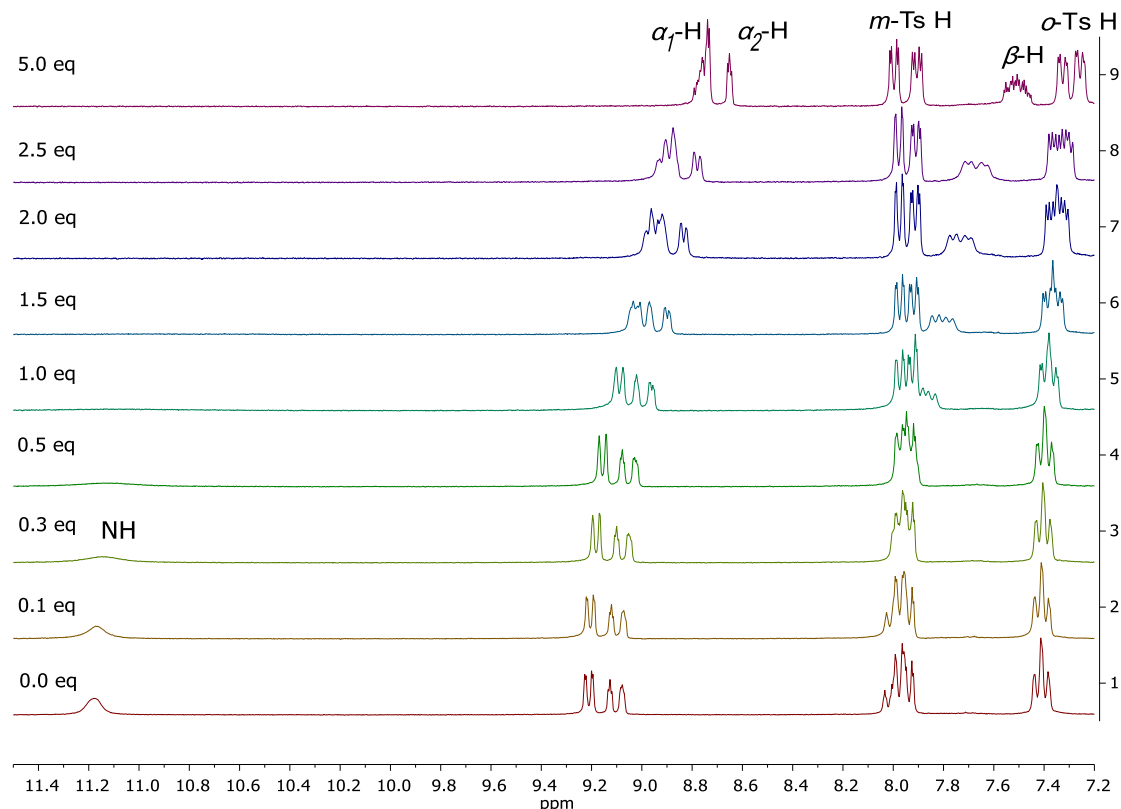


Figura 78 – Parte do espectro de RMN de ^1H da Pc **12** ($0,005 \text{ mol.dm}^{-3}$) após adições sucessivas de CN^- ($0,098 \text{ mol.dm}^{-3}$) em $\text{DMSO-}d_6$.

3.3.3 Resposta cromogénica em meios aquosos

A capacidade dos quimiossensores Pc **12-14** interagirem com aniões na presença de água foi avaliada. Para isso foram preparadas soluções de Pc **14** em diferentes misturas de DMSO/H₂O começando com 10% até 66% de água (DMSO/H₂O, 90:10 até DMSO/H₂O, 1:2 v/v). A adição de aniões a estas soluções de Pc **14** contendo H₂O, provoca uma variação nítida das suas cores iniciais, como se pode verificar na Figura 79.

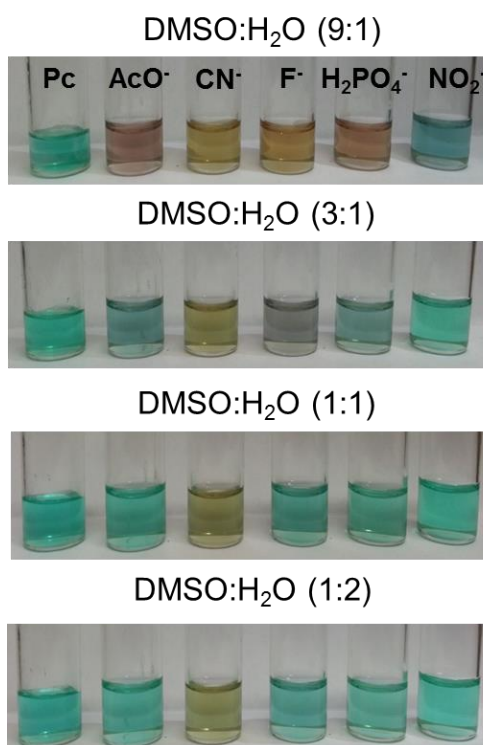


Figura 79 – Cor dos complexos Pc **14**:anião em várias misturas de DMSO/H₂O (relação 9:1, 3:1, 1:1 e 1:2).

Com o aumento da quantidade de água apenas o anião cianeto é capaz de induzir uma alteração de cor para soluções contendo a Pc **14**. A alteração de cor com a adição do anião cianeto é observada mesmo em soluções em que a quantidade de água é superior às do solvente orgânico, como no caso da mistura DMSO/H₂O 1:2. A coloração amarelada causada pela adição de cianeto permite uma discriminação positiva deste anião. Devido à baixa solubilidade dos três quimiossensores ftalocianínicos em água, a avaliação das suas respostas cromogénica apenas em água não é possível.

3.3.4 Mudança de cor em meio sólido

A fim de preparar um sensor prático para a detecção de aniões, pequenas folhas de papel de filtro normal foram imersas em soluções de Pc **12-14** em THF e, em seguida, deixadas secar durante a noite. Como resultado, foram obtidas três folhas de papel de filtro de coloração esverdeadas. Estes papéis coloridos foram cortados em pequenos pedaços e colocados em uma folha de poliestireno. Uma gota de cada solução de anião foi adicionada a estes pequenos pedaços de papel e as mudanças de cor foram registradas, como se pode verificar na Figura 80.

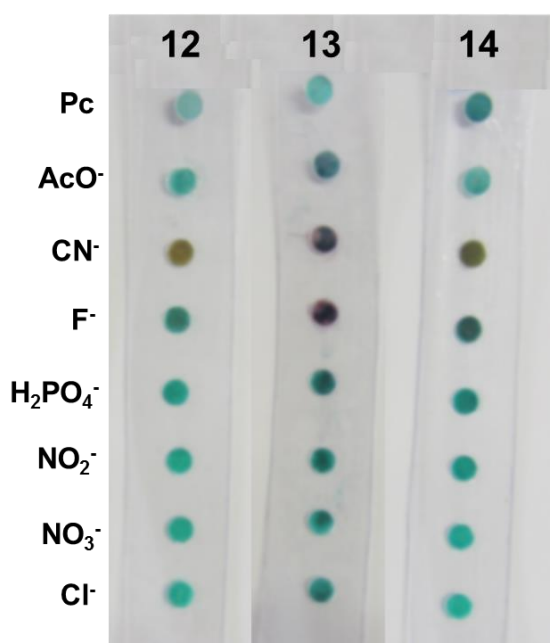


Figura 80 – Variações de cor obtidas em papel de filtro adsorvida com as Pc **12-14** após a adição de diferentes aniões.

As variações de cor obtidas estão em concordância com os resultados discutidos anteriormente isto é, os aniões que induzem uma alteração de cor mais significativa são os que apresentam constantes de afinidades mais elevadas em solução. Como esperado, o anião cianeto induz uma mudança de verde para amarelo esverdeado, indicando que estes novos quimiossensores são capazes de discriminar cianeto tanto em solução como quando adsorvidos em suporte sólido, neste caso em papel.

3.3.5 Estudos de reversibilidade e de reúso

Para estudar todas as potencialidades destes quimiossensores, a reversibilidade e reutilização dos quimiossensores Pc **12-14** foram avaliadas. De um modo geral, um sensor de aniões será tanto melhor quanto mais vezes puder ser utilizado sem perder a sua eficiência. Para a regeneração dos quimiossensores Pc **12-14** começamos pela titulação da Pc **12-14** com o anião cianeto (4×10^{-3} M) em THF. Após a complexação completa, a solução foi tratada com alíquotas de 10 μ L de uma solução previamente preparada de TFA (4×10^{-3} M em THF). Pudemos observar uma regeneração completa da solução do quimiossensor de partida. Como se pode observar na Figura 81, a Pc **13**, foi titulada com 2 equiv. de anião CN^- em THF, dando-se a formação do complexo **13**• 2CN^- . Esta complexação foi registrada por alterações espectrais de UV-Vis (Figura 82) e também por visualização de uma alteração colorimétrica da solução, passando da cor verde da solução de partida para o rosa.

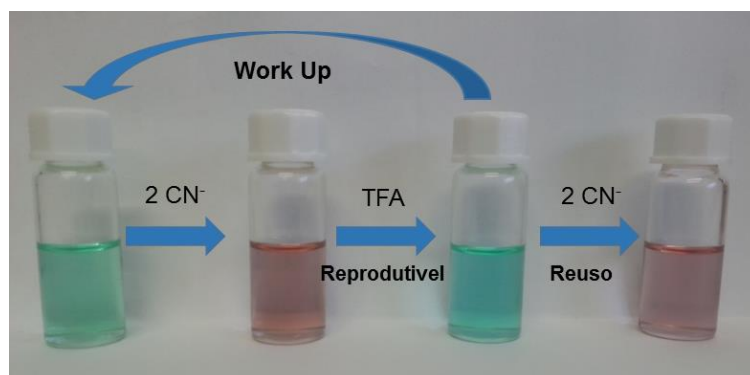


Figura 81 – Resposta colorimétrica da Pc **13** para testes de reversibilidade e de reutilização com o CN^- .

A remoção do ião cianeto que estava interagindo com o quimiossensor Pc **13** foi obtida pela adição de uma solução de TFA, levando a uma regeneração completa do quimiossensor. Essa descomplexação é acompanhada com uma mudança colorimétrica do rosa à cor inicial do quimiossensor, o verde. Para confirmar a capacidade de reutilização, a Pc **13** foi recuperada e titulada novamente com 2 equiv. de CN^- , mostrando características espectrais semelhantes à primeira titulação efetuada, isto é, à da solução de partida da Pc **13** com CN^- . O espectro de UV-Vis obtido apresentou idêntica absorvência, o que confirma a possível reutilização destes quimiossensores. Este procedimento é reprodutível, pois sempre que se efetuou a titulação obteve-se constantes de afinidade com valores similares aos indicados na Tabela 5 e sempre dentro do intervalo de erro estimado para as constantes.

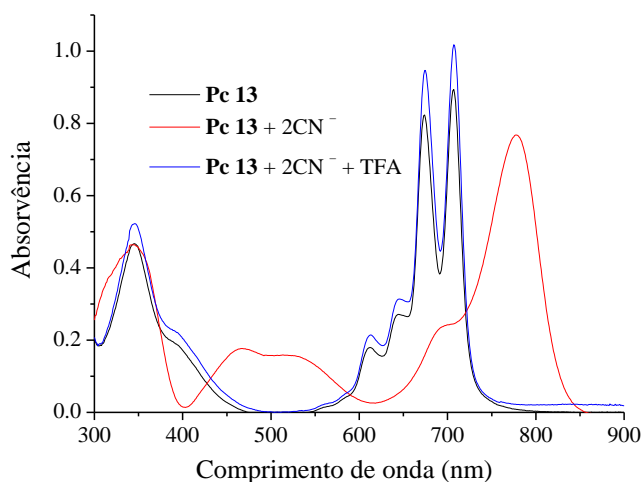


Figura 82 – Estudo de reutilização do complexo $\text{Pc } \mathbf{13} \cdot 2\text{CN}^-$ com uma solução de TFA em THF e suas alterações espectrais de UV-Visível correspondentes.

3.3.6 Conclusões

Neste subcapítulo avaliou-se a potencialidade dos quimiossensores ftalocianínicos interagirem com diferentes aniões, sendo o efeito do metal no núcleo dos macrociclos também estudado. Para estudar a interação dos quimiossensores com os diferentes aniões foram novamente utilizados os métodos descritos anteriormente, UV-Vis e RMN de ^1H .

Os quimiossensores sintetizados $\text{Pc } \mathbf{12}$ – $\mathbf{14}$ apresentam a capacidade de interagir com vários aniões apresentando uma estequiometria 1:2 (quimiossensor:anião), sendo que as constantes de afinidade obtidas com estes quimiossensores, tanto em THF como em DMSO, são da mesma ordem de grandeza que os valores obtidos anteriormente pelo nosso grupo de investigação com uma ftalocianina com o dobro dos grupos tosilamino. Podemos concluir deste modo que no caso da ftalocianina octa-substituída, os oito grupos tosilo não apresentavam com certeza todos um papel ativo na interação com os aniões.

Estes quimiossensores apresentam propriedades cromogénicas, tendo o metal um efeito fundamental para a obtenção de novas cores. No trabalho reportado anteriormente a ftalocianina de partida apresentava uma cor verde e quando interagia com os diferentes aniões mudava para uma cor violeta ou rosa. Com a inserção do metal no núcleo das ftalocianinas, estas quando interagiam com diferentes aniões obtiveram-se novas cores. O quimiossensor $\text{Pc } \mathbf{14}$, ftalocianina complexada com zinco, apresenta mais uma característica, é cromogenicamente seletivo para o anião cianeto. Foi também possível estudar estes quimiossensores em soluções contendo uma elevada percentagem de água. Na presença das misturas DMSO:H₂O apenas o anião cianeto é capaz de induzir uma alteração de cor para

soluções contendo a Pc **14**. A coloração amarelada obtida pela adição de cianeto numa solução da Pc **14** em DMSO:H₂O permite uma discriminação positiva deste anião. A baixa solubilidade dos quimiossensores em água, não permitiu a avaliação das propriedades cromogénica apenas em água.

Foi também possível preparar um kit simples de deteção de aniões em papel de filtro. Pedacos de papel de filtro absorvidos com os quimiossensores, quando interagem com os diferentes aniões apresentam uma mudança de cor, sendo o anião cianeto o mais seletivo. Este procedimento funciona de um modo semelhante a um papel indicador de pH.

Outra excelente propriedade destes quimiossensores é que podem ser reprodutíveis após interagirem com um anião ou reusados depois de serem regenerados, lavando-os facilmente com uma solução aquosa ligeiramente acidificada.

CAPÍTULO IV

Sensores suportados em (nano)materiais

4 Sensores suportados em (nano)materiais

Termos como nanociência, nanotecnologia, nanomateriais e nanopartículas fazem cada vez mais parte do nosso cotidiano e dos meios de comunicação social, deixando de ser exclusivo de ambientes acadêmicos. Estes termos científicos são normalmente direcionados às investigações que têm como objetivo controlar a estrutura fundamental e o comportamento de materiais limitados a algumas dezenas de átomos e/ou de moléculas (denominados como nanomateriais).

O princípio fundamental da nanociência é criar, controlar e perceber os sistemas numa escala de comprimento ao nível de alguns nanómetros (10^{-9} m). A nanotecnologia engloba a produção e aplicação de sistemas biológicos, físicos, químicos com tamanhos que vão desde as macromoléculas a nanoestruturas/matérias. Na química dos materiais tenta-se preparar novos materiais com propriedades únicas, assim como estudar as suas propriedades químicas e físicas de compostos orgânicos, inorgânicos ou híbridos.

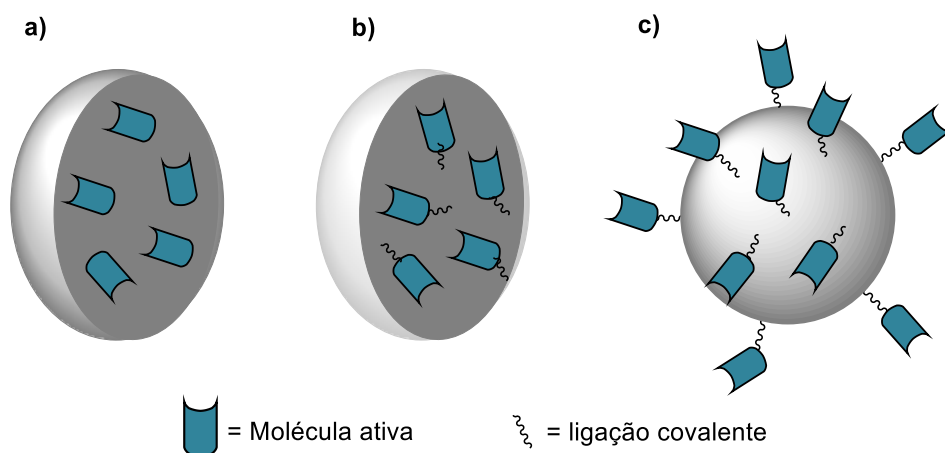
Estes pequenos materiais oferecem a possibilidade da compreensão de novas propriedades físicas e químicas, inerentes apenas a estes, e que podem ser utilizadas em escala microscópica e macroscópica com diferentes funcionalidades dos materiais comuns. As propriedades especiais das nanopartículas provêm da elevada proporção entre a área superficial e o seu volume. Possuem um número consideravelmente mais alto de átomos na sua superfície quando comparadas com partículas maiores, o que pode torná-las mais reativas. Destes materiais produzidos pelo homem, as nanopartículas têm sido aplicadas num grande número de produtos de consumo, como em tintas, protetores solares e formulações.

4.1 Nanopartículas como sensores de aniões

Nos últimos tempos, a comunidade científica tem vindo a desenvolver nanopartículas contendo diferentes componentes de reconhecimento molecular.¹⁹¹⁻¹⁹³ Nanopartículas de sílica (NPS) têm sido intensamente estudadas devido às suas propriedades físico-químicas. No campo da medicina, estes dispositivos estão a ser estudados como sistemas “inteligentes” não só na entrega e libertação controlada de fármacos, mas também para imobilização de enzimas.¹⁹⁴⁻¹⁹⁷ A nível ambiental têm, por exemplo, vindo a ser explorados no tratamento de águas.¹⁹⁸⁻²⁰¹

Existem assim, NPS com diferentes formas e tamanhos que têm sido utilizadas em combinação com diversas moléculas ativas. Normalmente para se preparar as NPS, os precursores de silício sofrem reações de hidrólise e de policondensação para formar uma suspensão coloidal. Deste modo, muitos investigadores têm estudado esta área a fim de preparar NPS de diferentes tamanhos.²⁰² NPS, amorfas ou mesoporosas, podem ser sintetizadas de acordo com vários métodos descritos na literatura.²⁰² Moléculas estáveis podem ser encapsuladas não-covalentemente (Esquema 27a) ou covalentemente, tanto no interior das NPS (Esquema 27b), como agraçadas à superfície das mesmas (Esquema 27c). Normalmente, para a funcionalização covalente seguem-se duas estratégias:

- i) as nanopartículas são previamente funcionalizadas com grupos ativos;
- ii) as moléculas a agraçar são derivados de silício.²⁰³



Esquema 27

Nanopartículas de sílica magnéticas (NPSM) são outro caso de estudos recentes. As NPSM apresentam propriedades distintas dos materiais à escala macroscópica, o que as torna materiais relevantes para diversas aplicações. Podem ser usadas em diferentes áreas como a biomedicina, biotecnologia, (bio)sensores, desenvolvimento de dispositivos eletrónicos, ciências dos materiais e também na área ambiental.²⁰⁴⁻²⁰⁶ As NPSM têm sido estudadas como materiais híbridos, quando acoplados com um composto orgânico, permitindo uma posterior recuperação/reutilização, constituindo um novo suporte para o desenvolvimento de tecnologias verdes.^{202,207-210} Estudos recentes do nosso grupo de investigação mostram que é possível acoplar porfirinas a NPSM através de uma reação simples e com bons rendimentos, com estudos posteriores para avaliar a atividade antimicrobiana. A notável

atividade antimicrobiana, associada à sua fácil recuperação, aplicando apenas um campo magnético, faz com que estes novos materiais sejam bastantes interessantes para a desinfecção de águas.^{209,210}

Para sintetizar as nanopartículas com núcleo magnético (*e.g.* Fe_3O_4) começou-se por preparar o núcleo, seguindo-se do revestimento com sílica, posteriormente funcionalização com grupos amina e subsequente imobilização de diferentes moléculas seleccionadas (hospedeiro) recorrendo a substituições nucleofílicas dos átomos de halogéneo das moléculas seleccionadas pelos grupos aminas das novas NPSM. Com estes materiais híbridos, espera-se conseguir uma elevada afinidade entre os novos materiais e os aniões.^{209,210}

Um dos primeiros trabalhos descritos sobre nanopartículas como sensores de aniões foi reportado por Beer *et. al.*,²¹¹ em 2004 onde é apresentada a preparação de nanopartículas de ouro com porfirinas complexadas com zinco e funcionalizadas com grupos tiol (Figura 83). Verificaram que o híbrido porfirina-nanopartícula sintetizado apresenta maior afinidade para os aniões brometo, iodeto e nitrato quando comparada com a do seu precursor não imobilizado e não complexado com metal.

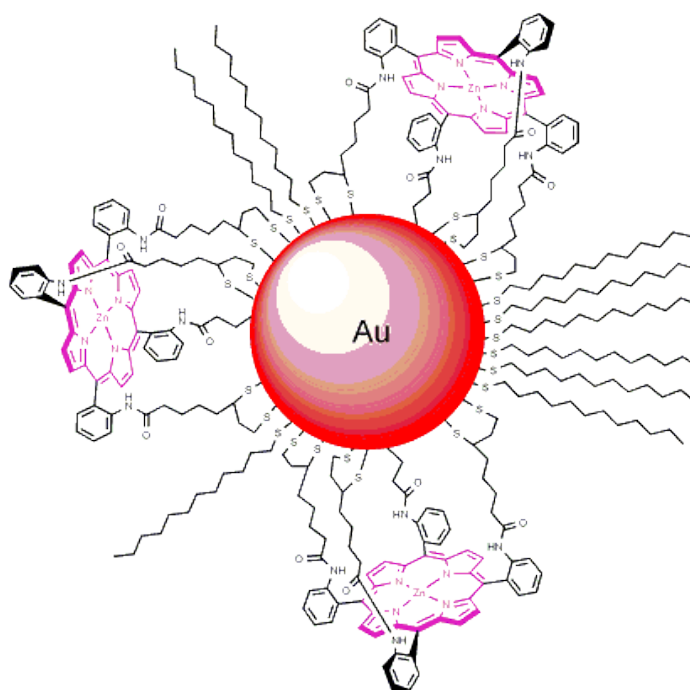


Figura 83 – Imagem ilustrativa do híbrido porfirina-nanopartícula de ouro.²¹¹

Foram realizadas titulações do material híbrido com uma variedade de aniões em diclorometano, sendo possível monitorizar as variações das interações por UV-Vis devido

às características cromóforas das porfirinas (Figura 84). Calcularam as constantes de afinidade e determinaram que se formavam complexos 1:1. Sugeriram também que o anião tem, presumivelmente, interação com o material híbrido por uma combinação de interações, tais como ligação de hidrogénio e por centros de ácido de Lewis.

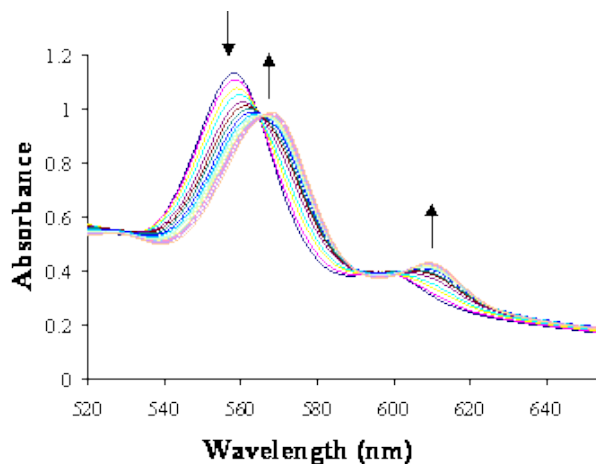


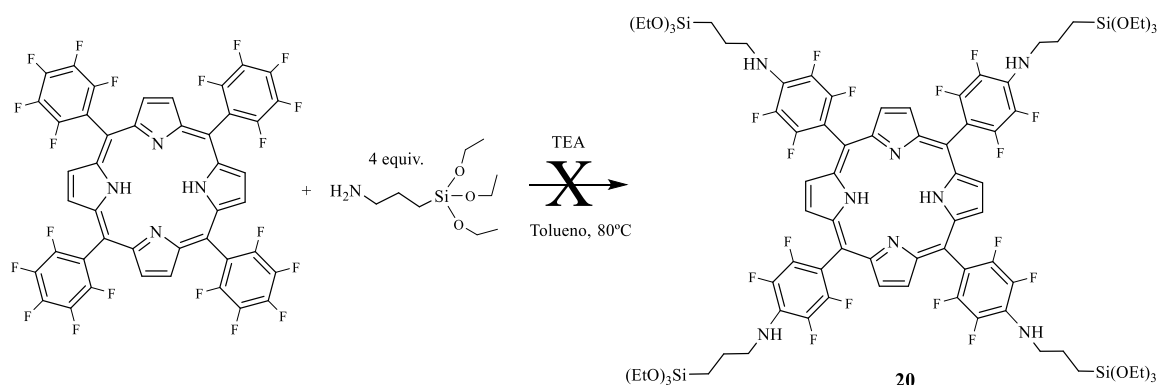
Figura 84 – Espectro UV-Vis da titulação de uma solução 50 mM do material híbrido com Br^- em diclorometano.²¹¹

4.2 Nanopartículas de sílica usadas como sensores de aniões

Como referido anteriormente, as NPS apresentam propriedades químicas e físicas únicas. Após o estudo dos hospedeiros que demonstraram possuir melhores propriedades como quimiossensores de aniões em solução (resultados reportados no subcapítulo anterior), tentou-se realizar reações de imobilização destes em nanopartículas. O objetivo principal foi sintetizar materiais híbridos e que estes possuissem uma elevada sensibilidade e seletividade para o reconhecimento e captação de aniões, permitindo a rápida e fácil recuperação/reutilização dos mesmos.

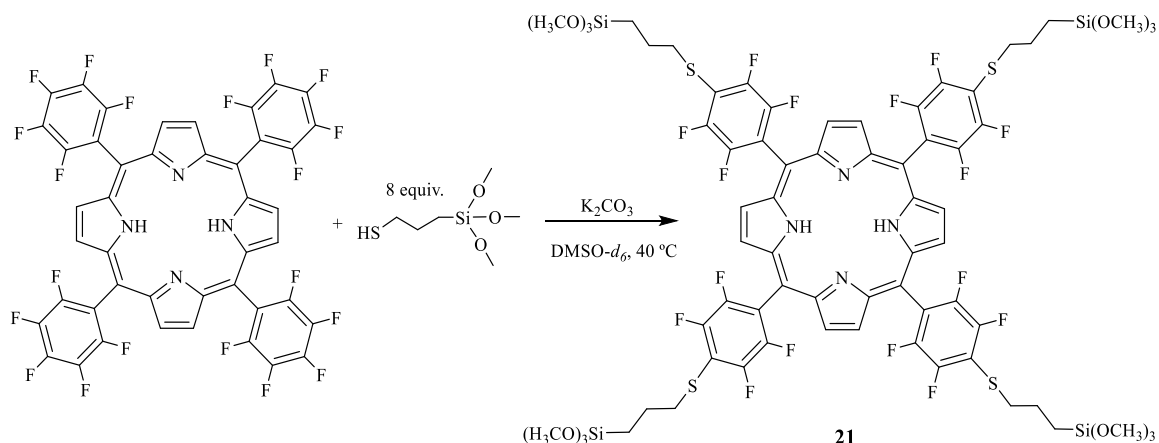
O primeiro passo deste trabalho foi estudar a funcionalização e o acoplamento da **TPPF₂₀** às NPS. Através da colaboração com o Professor Tito Trindade, CICECO, foram-nos cedidas NPS sintetizadas pelo seu grupo de investigação. Assim fez-se reagir a **TPPF₂₀** com 4 equiv. de 3-aminopropiltriethoxisilano (APTES) em tolueno seco em fio de sódio e na presença de trietilamina (TEA) durante seis horas a 40 °C (Esquema 28). Acompanhou-se a reação por TLC, no entanto não se verificou evolução da reação, pois o composto de partida não era consumido. Aumentou-se assim a temperatura para 80 °C e adicionou-se mais 4 equiv. de APTES. Por análise TLC verificou-se formação de um composto novo, mas este não saía do ponto de aplicação do TLC (não se conseguiu mesmo

eluir), sinal de acoplamento do APTES. Deu-se então a reação por terminada, evaporou-se o solvente, mas após levar a mistura reacional à secar não foi possível redissolver o material obtido.

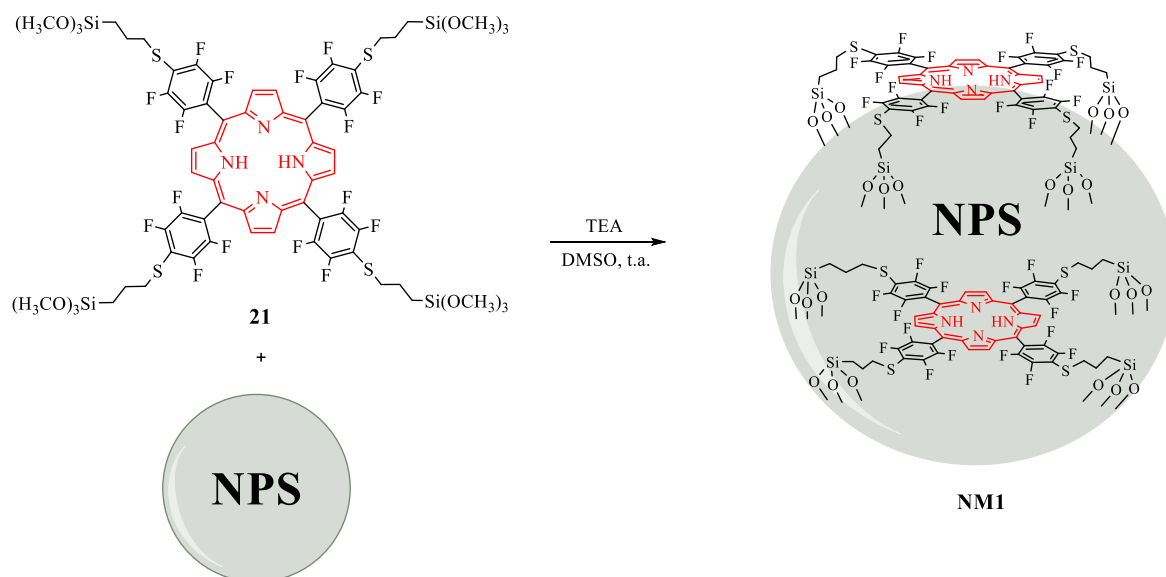


Esquema 28

Devido aos problemas reportados anteriormente na reação da **TPPF₂₀** com o APTES, mudou-se de estratégia e efetuou-se uma nova reação, agora entre a **TPPF₂₀** e o 3-mercaptopropiltriethoxissilano (MPTS). De modo a poder acompanhar a reação por RMN de ¹H, esta reação fez-se em DMSO deuterado. Assim num pequeno porta amostras deixou-se a **TPPF₂₀** com 4 equiv. de MPTS na presença de carbonato de potássio em DMSO-*d*₆ a 40 °C durante 6 horas (Esquema 29). Usou-se K₂CO₃ neste caso para não haver interferências com a posterior análise por RMN de ¹H. Após 6 horas de reação por análise de TLC de controlo da reação já havia formação de uma nova mancha muito polar, que não eluía, mas ainda assim havia composto de partida. Adicionaram-se mais 4 equiv. de MPTS e deixou-se reagir por mais 6 horas. Após este tempo verificou-se por TLC de controlo da reação o desaparecimento da **TPPF₂₀**. A análise do espetro de RMN de ¹H não foi conclusiva pois o espetro apresentava vários sinais difíceis de compreender, provavelmente devido ao excesso de MPTS que não reagiu. No entanto a análise do espetro de RMN de ¹⁹F permitiu verificar que o acoplamento foi possível, pois o sinal correspondente à ressonância dos *para*-F desapareceu.



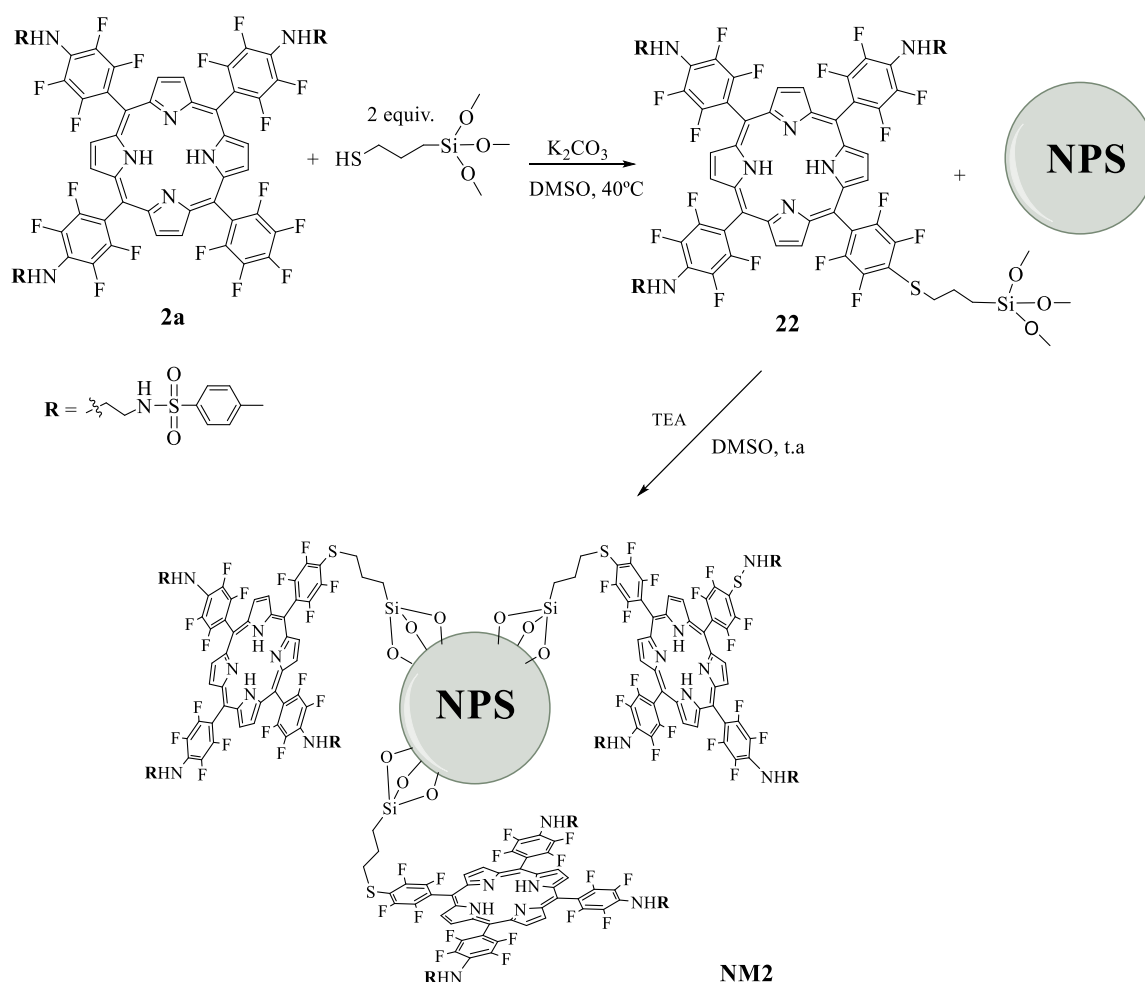
Procedeu-se então ao segundo passo que consistiu em acoplar o derivado Por-silano às NPS. Deixou-se assim o derivado Por-silano **21** a reagir com as NPS durante 2 dias à temperatura ambiente (Esquema 30).



O material híbrido resultante, **NM1**, foi filtrado por uma membrana com a ajuda de um funil de Buchner. Obtiveram-se assim as primeiras NPS decoradas com a porfirina **21** (estas apresentavam uma cor rosa), no entanto a solução filtrada tinha também uma cor roxa devido à porfirina que não reagiu.

Depois de lavar bem o material híbrido confirmou-se o acoplamento do derivado Por-silano às NPS por espectroscopia de UV-Vis de sólidos. O espectro obtido permitiu observar as bandas características das porfirinas.

Após otimização do acoplamento do MPTS a uma porfirina e posterior ancoragem às NPS ter sido efetuado com sucesso, fez-se uma reação de teste com um dos quimiossensores previamente sintetizados, o quimiossensor **2a**, que contém um grupo *para*-F não substituído. Assim executou-se a reação com a porfirina **2a** com 2 equivalentes de MPTS e com K_2CO_3 em DMSO a 40 °C. Quando se verificou o consumo total da porfirina de partida por TLC, deu-se por terminada a reação. Adicionaram-se de seguida as NPS e deixou-se reagir por mais dois dias, agora a temperatura ambiente, obtendo-se o **NM2** (Esquema 31).



Esquema 31

Filtrou-se a mistura reacional por uma membrana com a ajuda de um funil de Buchner e obtiveram-se assim as NPS decoradas com o quimiossensor de cor roxa (**NM2**)

como se pode verificar na Figura 85. Na solução filtrada ficou a Por-silano que não reagiu. Novamente, depois de lavadas, o acoplamento da porfirina **2a** às NPS confirmou-se por espectroscopia de UV-Vis, apresentando um espectro típico de porfirina. Na Figura 86 está representado o espectro de UV-Vis da porfirina **2a** e do **NM2**, ambos em diclorometano, onde se pode verificar que o espectro apresentado pelo nanomaterial formado é muito semelhante ao da porfirina **2a**, comprovando assim o sucesso do acoplamento da porfirina às NPS. Está também representado na Figura 87 o **NM2** numa célula, onde se pode verificar que o material se encontra disperso e em suspensão em diclorometano.

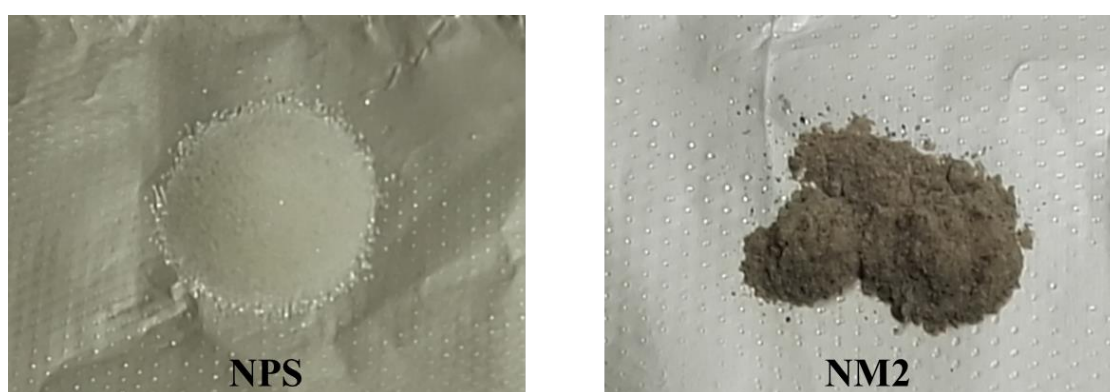


Figura 85 – NPS (esquerda) e NPS funcionalizadas com a porfirina **2a** (direita).

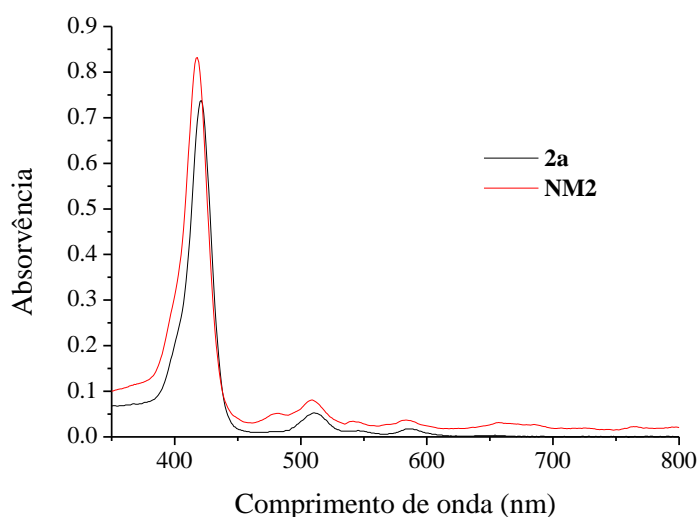


Figura 86 – Espectro UV-Vis da porfirina **2a** e do **NM2** em diclorometano.



Figura 87 – NM2 em suspensão em diclorometano.

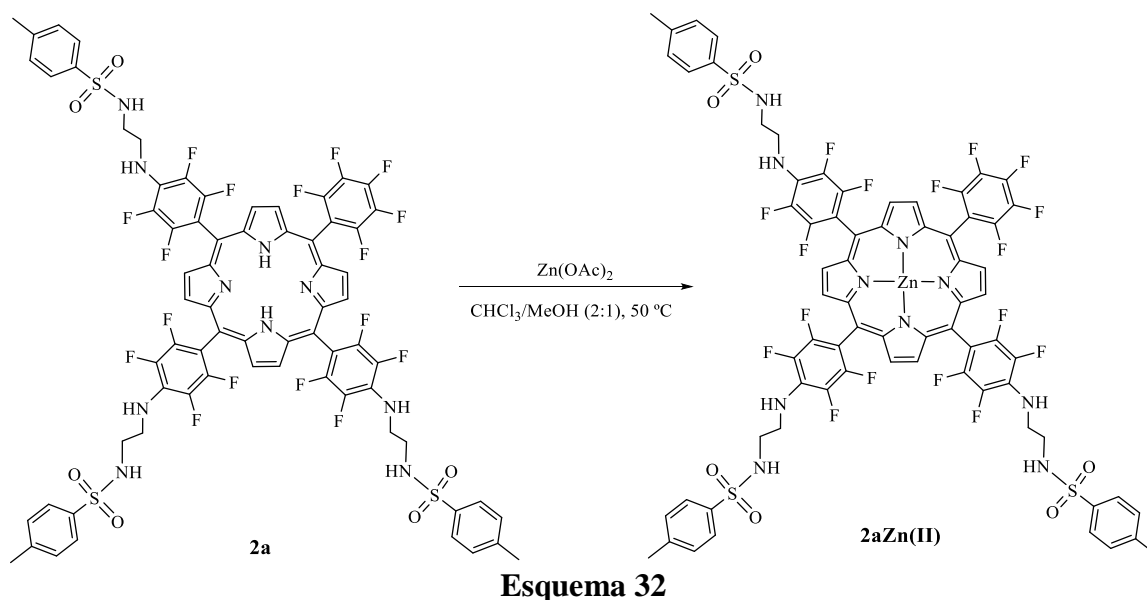
Este estudo foi bastante importante pois no subcapítulo **4.4** este tipo de reação foi também utilizada para acoplar o quimiossensor às fibras óticas funcionalizadas.

4.3 Nanopartículas de sílica magnéticas usadas como sensores de aniões

A síntese das NPSM foi efetuada em três etapas: síntese do núcleo magnético de óxido de ferro (Fe_3O_4), revestimento com sílica e funcionalização recorrendo ao alcoxi-silano APTES. A preparação do núcleo ferroso é realizada recorrendo ao método da co-precipitação de sais de Fe(II) e Fe(III) por adição de base (amoníaco). O revestimento de sílica foi realizado recorrendo ao método do ácido silícico, usando meta-silicato de sódio como fonte de óxido de silício. Por fim as nanopartículas foram derivatizadas recorrendo a APTES que permitiu a ligação posterior aos diferentes quimiossensores.²⁰⁹

4.3.1 Síntese de híbridos NPSM-porfirinas

Numa primeira abordagem e tentativa de acoplamento de um quimiossensor às NPSM optou-se por usar a porfirina **2a**, uma vez que se trata de uma porfirina com um grupo *para*-flúor livre e de acesso sintético mais fácil e rápido. Mas devido a problemas posteriores, que irão ser discutidos no subcapítulo **4.4** usou-se a porfirina **2a** complexada com o ião metálico zinco. Assim antes de se proceder à reação de acoplamento do quimiossensor às NPSM, o derivado porfirínico **2a** foi complexado com acetato de zinco (Esquema 32).



A complexação do derivado porfirínico foi seguido por TLC e confirmada por espectroscopia de UV-Vis, verificando que das quatro bandas Q do composto inicial só restava a presença das duas bandas características de porfirinas complexadas com um íon metálico no interior do núcleo do macrociclo (Figura 88).

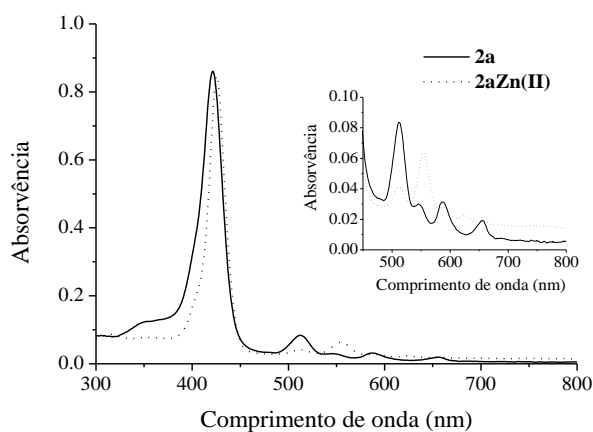


Figura 88 – Espectro UV-Vis da porfirina de base livre **2a** (linha contínua) e da porfirina complexada com zinco **2aZn(II)** (linha descontinua).

Foi também comprovado a formação do complexo por RMN de ^1H . O espectro é muito semelhante ao do composto **2a** e está representado na Figura 89. A única diferença é o desaparecimento do sinal correspondente à ressonância dos prótons NH internos do núcleo porfirínico a δ -3,15 ppm. A estrutura do composto foi ainda confirmada por EM, onde o espectro apresenta um pico com uma razão m/z de 1620,0 correspondente ao íon molecular

$[M+H]^+$. O complexo **2aZn(II)** foi usado em reações de substituição nucleofílica com as NPSM para a futura preparação de materiais híbridos.

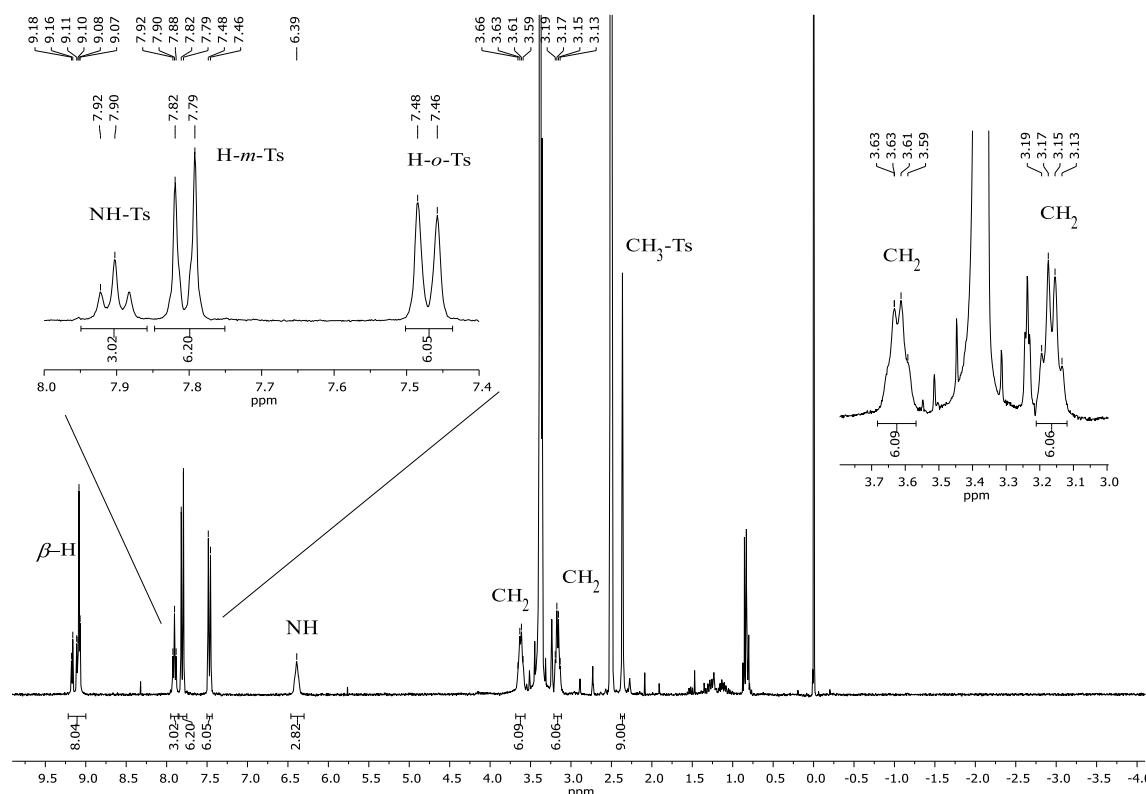
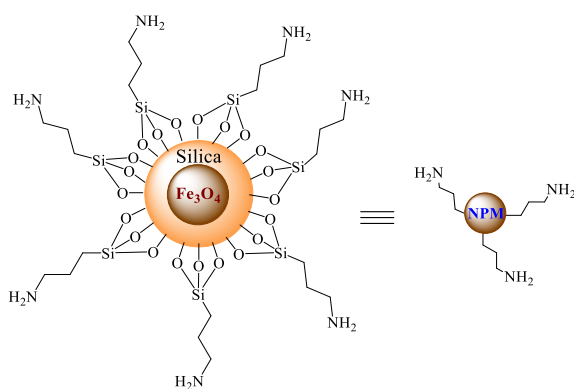
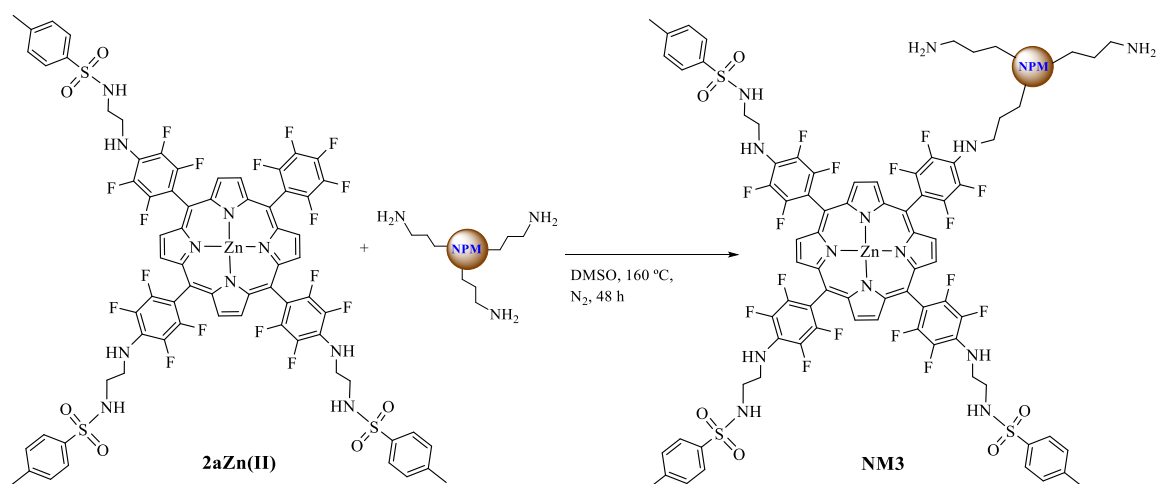


Figura 89 – Espectro de RMN de ^1H do composto **2aZn(II)** em $\text{DMSO}-d_6$.

Após caracterizar a porfirina complexada com zinco o primeiro passo para sintetizar os materiais híbridos com as NPSM foi efetuar a reação entre o quimiossensor **2aZn(II)** e as NPSM nas condições descritas na literatura.²¹⁰ A uma solução de porfirina **2aZn(II)** em DMSO, adicionou-se uma suspensão de NPSM em DMSO. A mistura reacional foi mantida em agitação magnética a 160 °C, sob atmosfera de azoto (Esquema 33). A reação foi sendo monitorizada por TLC e ao fim de 48 horas verificou-se que já não ocorria uma evolução significativa da reação, tendo uma parte substancial da porfirina de partida sido consumida com formação de um produto insolúvel de cor avermelhada e uma pequena parte do material de partida por reagir. Parou-se a reação, deixou-se arrefecer a mistura reacional e esta foi filtrada e lavada com DMSO. A lavagem do sólido insolúvel foi monitorizada por UV-Vis até que o solvente de lavagem não apresentasse banda Soret, característica da porfirina de partida **2aZn(II)**. O material filtrado que ficou na membrana foi re-suspenso em DMSO e a

quantidade de porfirina que não reagiu, presente no solvente de lavagem, calculada por UV-Vis, sendo dessa forma possível calcular a concentração de porfirina suportada no **NM3**.



Esquema 33

O **NM3** foi caracterizado por UV-Vis de líquidos (Figura 90) e sólidos (Figura 91). Como se podem ver nos espectros de UV-Vis estes apresentam absorção típica de porfirina.

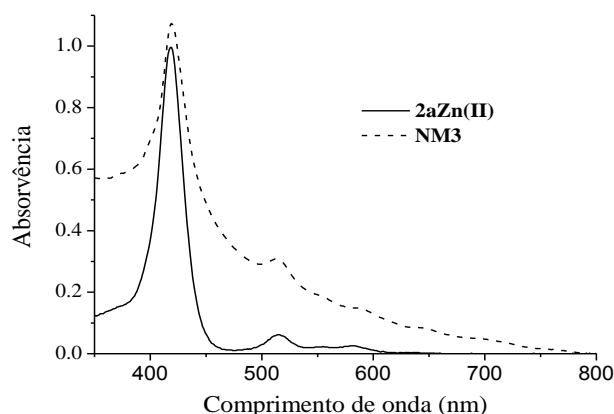


Figura 90 – Espectros de UV-Vis líquido da **2aZn(II)** (linha contínua) e do **NM3** (linha descontínua).

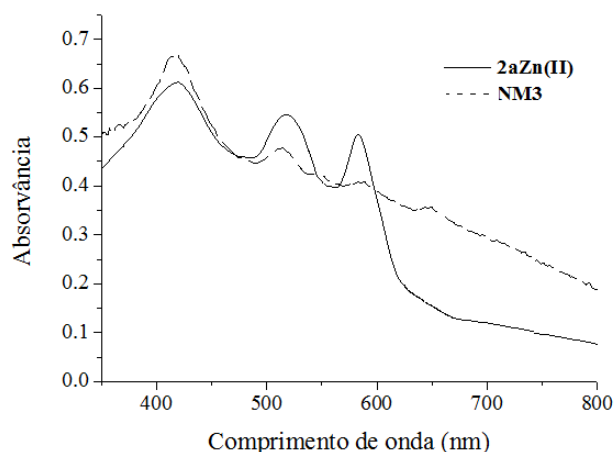


Figura 91 – Espectros de UV-Vis sólido da **2aZn(II)** (linha contínua) e do **NM3** (linha descontínua).

Com este material híbrido, espera-se conseguir uma elevada sensibilidade e seletividade para o reconhecimento de aniões, permitindo a rápida e fácil recuperação/reutilização dos mesmos.

4.3.2 Híbridos NPSM-porfirinas usados como sensores de aniões

Numa primeira fase efetuou-se apenas titulações do quimiossensor **2aZn(II)** em solução para estudar a interação deste com aniões em DMSO. Fizeram-se titulações do quimiossensor **2aZn(II)** com os vários aniões e verificou-se por UV-Vis que ocorria variação da banda Soret, maior quando adicionado o anião de di-hidrogenofosfato, e menor quando adicionados os aniões acetato e fluoreto. Aniões como o brometo, cloreto, nitrato e nitrito não apresentaram nenhuma variação significativa. Como se esperava o quimiossensor tem um comportamento semelhante ao quimiossensor **2**, tal como observado no capítulo 3.

Na Figura 92 estão representadas as alterações provocadas no espectro de UV-Vis da porfirina **2aZn(II)** pela adição de H_2PO_4^- em DMSO. Como se pode verificar há um decaimento da banda Soret, mas essa variação é inferior do que a observada no quimiossensor **2**. Isto pode-se justificar pela ausência de um dos 4 sítios de interação dos aniões. É ainda importante referir que neste estudo o solvente é o DMSO, que apresenta uma maior capacidade de interação com os grupos NH do que o clorofórmio. Nas Figura 93 e Figura 94 estão apresentadas as perturbações causadas pela adição dos aniões acetato e fluoreto no quimiossensor **2aZn(II)**.

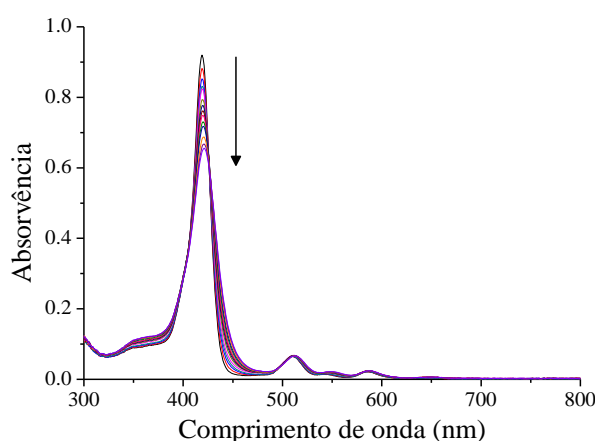


Figura 92 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis do quimiossensor **2aZn(II)** ($2,40 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de H_2PO_4^- ($3,00 \times 10^{-02} \text{ mol.dm}^{-3}$) em DMSO.

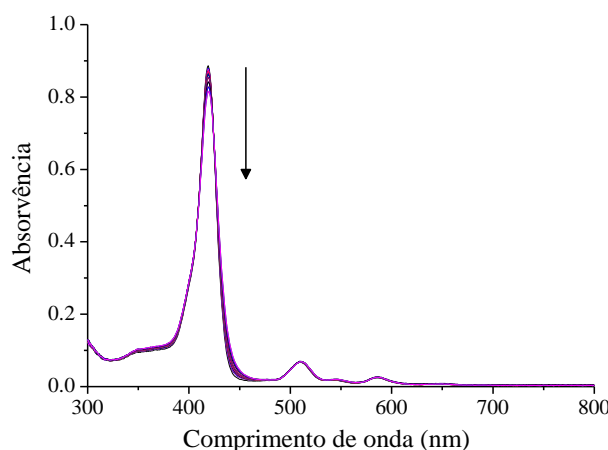


Figura 93 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis do quimiossensor **2aZn(II)** ($2,40 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de AcO^- ($3,80 \times 10^{-02} \text{ mol.dm}^{-3}$) em DMSO.

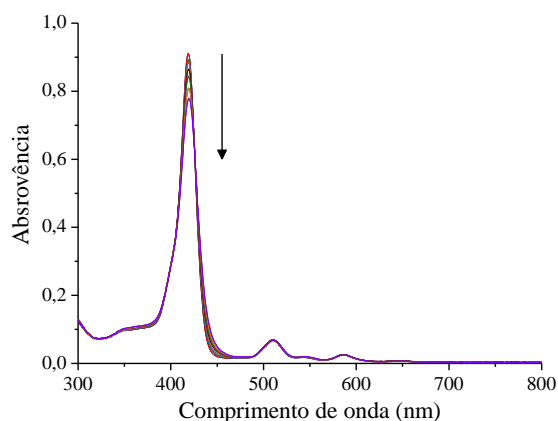


Figura 94 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis do quimiossensor **2aZn(II)** ($2,40 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de F^- ($2,50 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em DMSO.

Depois de se ter estudado o comportamento do quimiossensor **2aZn(II)** em solução, procedeu-se então ao estudo do **NM3** com diferentes aniões também em solução. Utilizando o mesmo procedimento experimental realizou-se a titulação do material **NM3** com diferentes aniões por espectrofotometria de UV-Vis. Os resultados obtidos através desta titulação não permitiram tirar conclusões concretas sobre a interação estabelecida entre o material e os diversos aniões em estudo. Tendo-se verificado um aumento da intensidade do sinal da banda Soret da porfirina, devido à desagregação dos NPSM (Figura 95). Este resultado é contrário ao expectável, uma vez que se esperava a diminuição da banda Soret com o aumento da concentração de $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$. Com os restantes aniões estudados o comportamento foi semelhante.

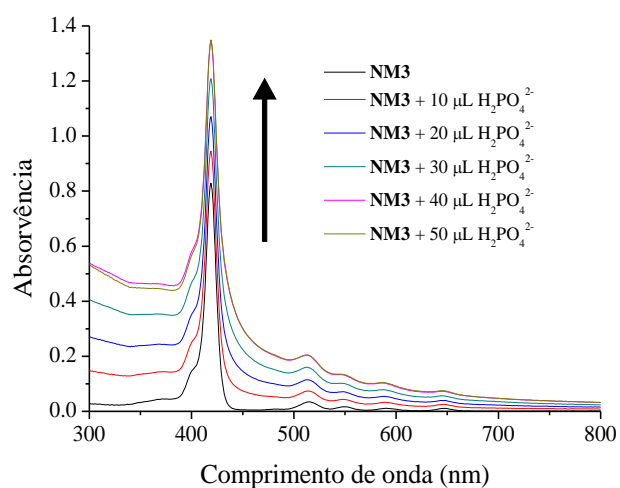


Figura 95 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis no **NM3** pela adição de H_2PO_4^- em DMSO.

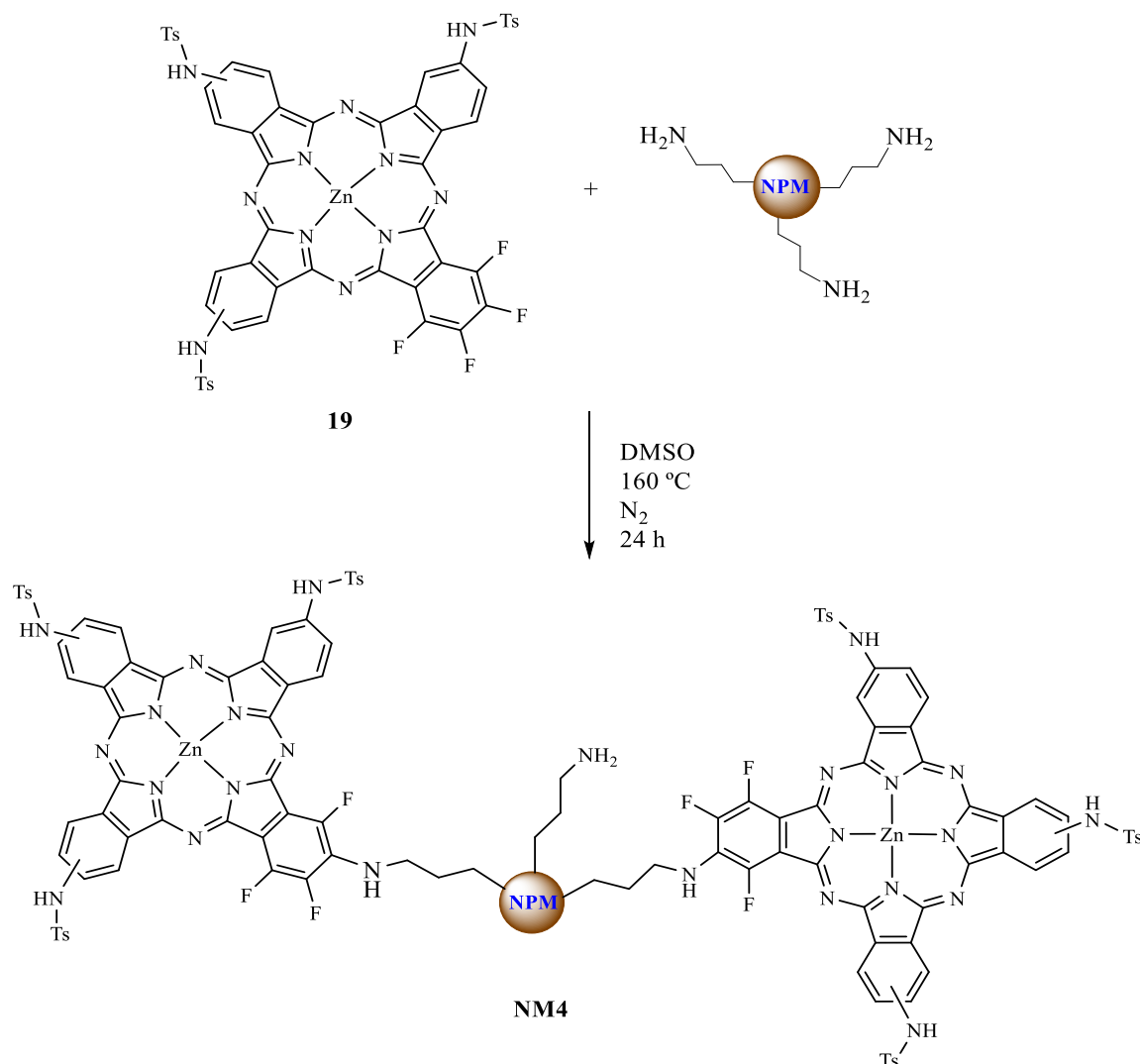
Este estudo entre o nanomaterial e os aniões não apresentou resultados como o esperado. Com a inserção do ião zinco no núcleo da porfirina, poderia ocorrer coordenação também ao Zn, aumentando deste modo a interação entre os aniões e o **NM3**. A baixa interação poderá dever-se aos NH livres do **NM3** interagirem com os diferentes aniões ou pelo solvente usado nestes testes ser o DMSO, pois é um solvente competitivo com os aniões pois também interage com os grupos NH livres do quimiossensor e da nanopartícula magnética. Poderá também ser discutida a hipótese por este ser um material amorfo e adsorver os aniões, não sendo registado qualquer variação no espectro de UV-Vis. Ou então o facto de estarmos na presença de um equilíbrio líquido/sólido que poderá dificultar o estabelecimento de interações.

Uma vez que estes resultados não permitiram um estudo completo sobre o tipo e a forma de interação entre o material e os aniões, e também devido ao facto deste projeto de doutoramento estar a chegar a uma fase final decidimos proceder à síntese de NPSM com ftalocianinas. As ftalocianinas são materiais robustos que apresentavam em solução alterações drásticas de coloração, pelo que esperávamos também neste equilíbrio sólido/líquido observar alterações mais significativas. Este trabalho encontra-se discutido no subcapítulo seguinte.

4.3.3 Síntese de híbridos NPSM-ftalocianinas

Depois de se conseguir o acoplamento da porfirina a NPSM com sucesso, usou-se a mesma metodologia para acoplar ftalocianinas a NPSM. Neste caso usou-se também uma ftalocianina assimétrica, a Pc **19**. Não se fez o estudo do acoplamento desta ftalocianina às NPS pois a síntese deste composto é bastante moroso e é obtido com um rendimento muito mais baixo comparado à ftalocianina simétrica. A purificação também é relativamente difícil, são compostos que agregam, precipitando muitas vezes nas colunas de sílica, onde são obtidos vários compostos.

Assim, a uma solução de Pc **19** em DMSO adicionou-se uma suspensão de NPSM em DMSO. A mistura reacional foi mantida em agitação magnética a 160 °C, sob atmosfera de azoto (Esquema 34).



Esquema 34

A reação foi sendo monitorizada por TLC e ao fim de 24 horas verificou-se que já não ocorria uma evolução significativa da reação, tendo sido a ftalocianina de partida praticamente toda consumida. Parou-se a reação, deixou-se arrefecer a mistura reacional e esta foi filtrada e lavada com DMSO, tendo-se obtido um produto insolúvel de cor. A lavagem do sólido foi monitorizada por UV-Vis até que no solvente de lavagem já não fosse possível detetar a banda Q característica da ftalocianina de partida. O produto filtrado foi re-suspenso em DMSO para posterior teste com aniões.

O **NM4** foi caracterizado por UV-Vis de líquidos (Figura 96) e UV-Vis de sólidos (Figura 97). Como se pode ver nos espectros de UV-Vis estes apresentam bandas de absorção típicas das ftalocianinas.

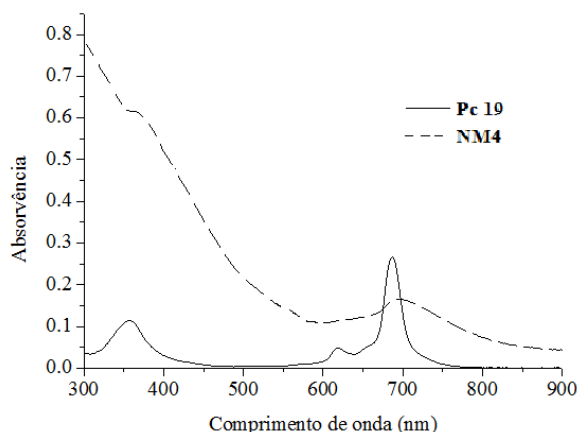


Figura 96 – Espectros de UV-Vis da Pc **19** (linha contínua) e do NM**4** (linha descontinua) em DMSO.

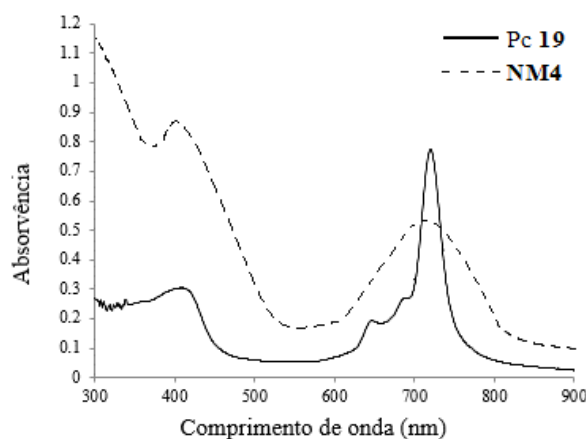


Figura 97 – Espectros de UV-Vis da Pc **19** (linha contínua) e do NM**4** (linha descontinua) no estado sólido.

Depois de se ter estudado o NM**3** como quimiossensor de aniões e os resultados não terem sido os esperados, com este material híbrido magnético acoplado a ftalocianinas (NM**4**) espera-se conseguir vir a ter uma alteração de UV-Vis quando em contacto com aniões. A característica magnética do nanomaterial permite a rápida e fácil recuperação/reutilização dos mesmos.

4.3.4 Híbridos NPSM-ftalocianina usados como sensores de aniões

Tal como referenciado anteriormente, numa primeira fase foi necessário efetuar titulações do quimiossensor **19** em solução para estudar a interação deste com aniões em DMSO. Por isso, fez-se a titulação da Pc **19** com vários aniões e verificou-se que o comportamento deste quimiossensor era bastante semelhante ao da ftalocianina simétrica **14**. Em ambas ocorre uma maior variação da banda Q quando adicionado o anião acetato,

cianeto, fluoreto e di-hidrogenofosfato, e uma menor variação quando adicionado o anião nitrito. Os restantes aniões tais como o brometo, cloreto e nitrato não apresentaram nenhuma variação significativa. Na Figura 98 estão representadas as alterações provocadas no espectro de UV-Vis da **Pc 19** pela adição de AcO^- em DMSO. Como se pode verificar há uma variação da banda Q da ftalocianina para maiores comprimentos de onda. As titulações com os aniões cianeto, fluoreto e di-hidrogenofosfato têm comportamento idêntico ao do anião acetato. Na Figura 99 estão apresentadas as perturbações causadas pela adição do anião nitrito. Como se pode verificar as perturbações causadas entre este anião e o quimiossensor é muito inferior à dos aniões descritos anteriormente.

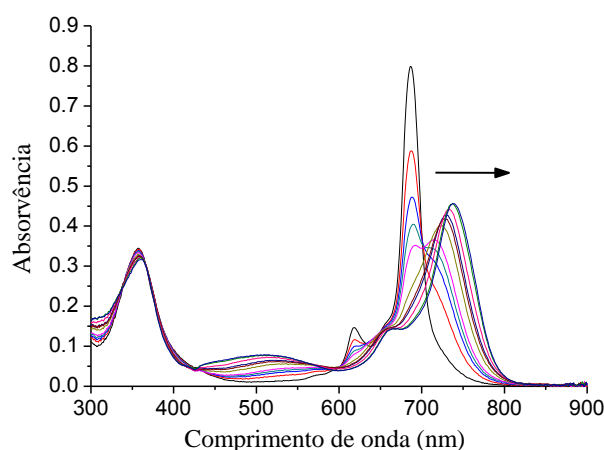


Figura 98 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis do quimiossensor **Pc 19** ($2,60 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de AcO^- ($7,51 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$) em DMSO.

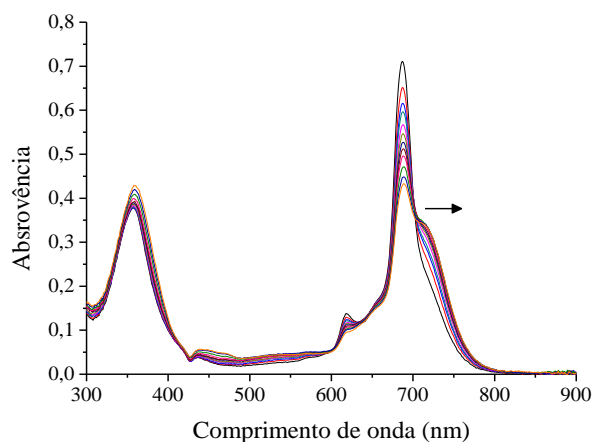


Figura 99 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis do quimiossensor **Pc 19** ($2,60 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de NO_2^- ($4,30 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em DMSO.

Depois de estudado o comportamento do quimiossensor **Pc 19** em solução, procedeu-se então ao estudo do **NM4** com diferentes aniões em suspensão. Com este material híbrido

os resultados obtidos foram diferentes dos reportados para o **NM3**. Neste caso não ocorreu um aumento dos sinais da banda Soret, nem da banda Q do **NM4**, mas sim um desvio batocrômico quando o **NM4** interagia com alguns aniões. Na Figura 100 está representada a titulação do **NM4** com o AcO^- onde se pode verificar um pequeno desvio das bandas do **NM4** com o aumento da concentração de anião.

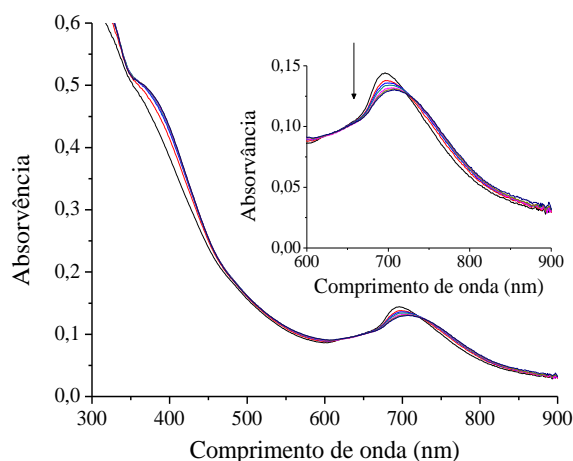


Figura 100 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis do **NM4** ($1,8 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de alíquotas de AcO^- ($3,75 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em DMSO.

Comportamento semelhante ao anterior é observado quando são titulados os aniões cianeto (Figura 101) e fluoreto (Figura 102) ao **NM4**. Esperava-se também que com a adição do anião di-hidrogenofosfato ao **NM4** o resultado fosse semelhante aos anteriores descritos, pois em solução mostrava ter grande afinidade, mas tal não aconteceu (Figura 103). O mesmo aconteceu com os restantes aniões, como o cloreto, brometo, nitrato e nitrito.

Como verificado pelas figuras anteriores, a titulação dos aniões com o **NM4** não fez com que houvesse alterações muito significativas nos espectros de UV-Vis, contrariamente ao observado com a Pc **19** em solução. Isso, muito provavelmente, deve-se ao facto de se tratar de interações entre um anião em solução e um material coloidal, não sendo possível num espectro de visível com bandas bastante largas visualizar as alterações que essas interações possam originar.

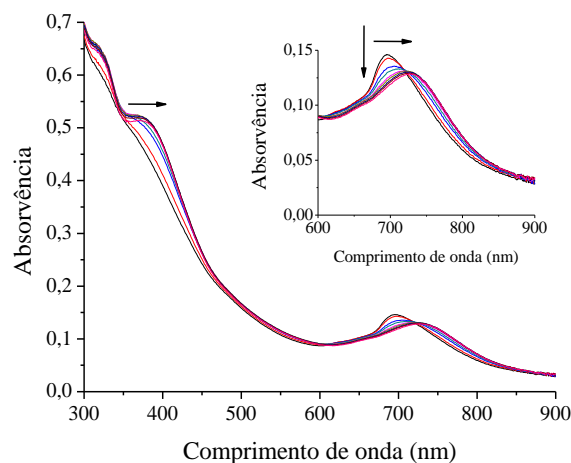


Figura 101 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis do **NM4** ($1,8 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³) pela adição de alíquotas de CN⁻ ($4,15 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³) em DMSO.

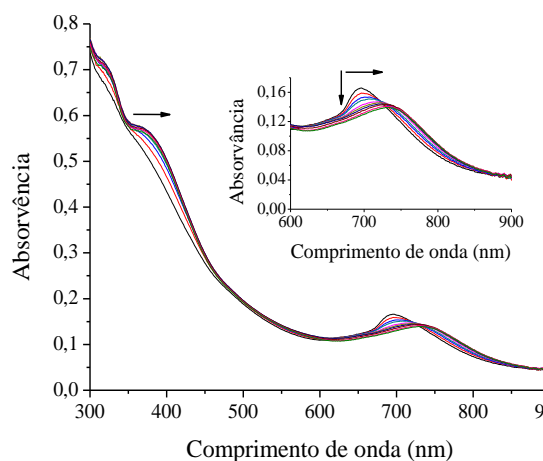


Figura 102 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis do **NM4** ($1,8 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³) pela adição de alíquotas de F⁻ ($2,50 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³) em DMSO.

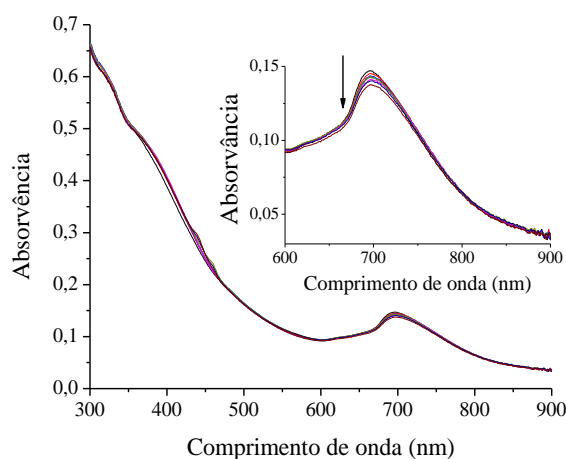


Figura 103 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis do **NM4** ($1,8 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³) pela adição de alíquotas de H₂PO₄⁻ ($3,50 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³) em DMSO.

Como os estudos anteriores foram efetuados em DMSO, tentou-se titular o **NM4** em água com o intuito de avaliar a sua utilização na detecção e remoção de aniões em meios aquosos (Figura 104). No entanto a adição dos diferentes aniões não induziu qualquer alteração no espectro de UV-Vis. A titulação dos diferentes aniões, mesmo em grande excesso, fez apenas com que as bandas de absorção do **NM4** sofressem um aumento devido à diluição da solução a analisar. Foi tentado também titular o **NM4** com diferentes concentrações de aniões mas o resultado em soluções aquosas foi sempre o mesmo, nunca se conseguiu obter um desvio das bandas de absorção.

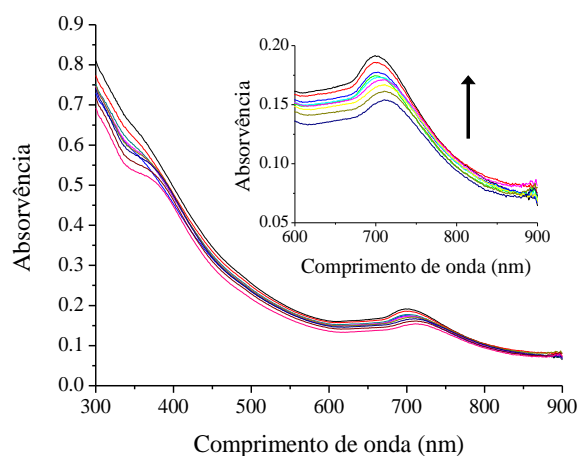


Figura 104 – Alterações provocadas nos espectros de UV-Vis do **NM4** ($1,8 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela adição de CN^- ($4,15 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) em H_2O .

Para estudar todas as potencialidades destes quimiossensores, a capacidade magnética e reutilização do **NM4** foi avaliada. Como descrito anteriormente, um sensor de aniões será considerado tanto melhor quanto mais vezes puder ser utilizado sem perder a sua eficiência. Para se estudar a potencialidade da reutilização do **NM4** efetuou-se titulação com o anião fluoreto em DMSO. Após complexação completa com o anião recuperou-se o **NM4** com a ajuda de um campo magnético. Na tentativa da remoção do ião fluoreto que estava interagindo com o quimiossensor para ser possível a regeneração do **NM4** este foi lavado com uma solução aquosa previamente acidificada com TFA. Foi possível observar uma regeneração completa do **NM4** de partida. Como se pode observar na Figura 105, o **NM4** foi titulado com F^- em excesso em DMSO, formando-se o complexo **NM4**• F^- . Após lavagem com uma solução de TFA o nanomaterial registou um espectro de UV-Vis semelhante ao de partida (Figura 105).

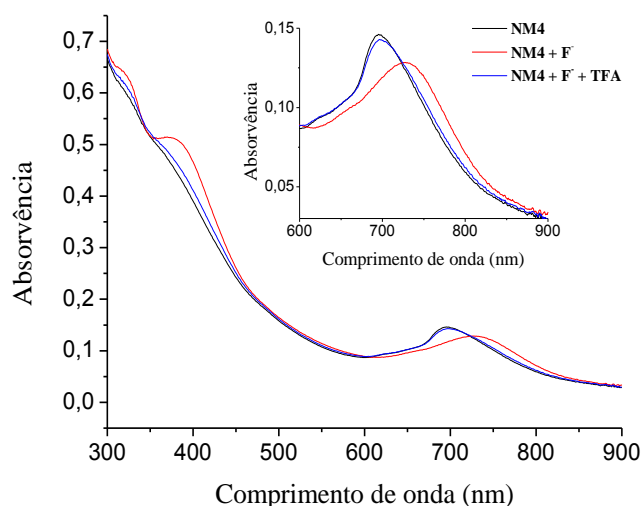


Figura 105 – Estudo de reutilização do material **NM4** por tratamento do **NM4•F⁻** com uma solução aquosa de TFA, e suas correspondentes alterações espectrais de UV-Visível.

4.3.5 Conclusões

Este subcapítulo teve como principal objetivo a preparação de novos quimiossensores porfirínicos e ftalocianínicos imobilizados quer em NPS quer em NPSM. Ambos os materiais precursores (NPS e NPSM) foram sintetizados segundo métodos descritos na literatura. Numa primeira parte estudou-se o melhor método e condições de acoplamento dos quimiossensores às NPS e posteriormente foram estudados as condições para as NPSM. Com esta metodologia foi possível obter novos materiais que apresentam propriedades bastante interessantes, como no caso das NPSM que são, ao mesmo tempo, quimiossensores e compostos magnéticos, propriedade da qual se pode tirar partido para remoção/recuperação do híbrido de um determinado meio através de um campo magnético. Ambos os materiais foram caracterizados por UV-Vis de líquidos e sólidos.

Para o material **NM3** não foi possível seguir uma eventual interação com aniões, por não mostrar variações claras das suas bandas de absorção. No caso no material **NM4** este já demonstrou ter capacidade para interagir com o anião acetado, cianeto e fluoreto em DMSO. Mesmo assim, as variações observadas foram pequenas para ser possível calcular as constantes de afinidade destes aniões ao material **NM4**. Quando o estudo se efetuou em soluções aquosas nenhuma variação foi detetada.

Outra excelente propriedade destes materiais magnéticos é que podem ser recuperados e posteriormente regenerados após interagirem com um anião, lavando-os com água acidificada.

4.4 Fibras óticas como sensores

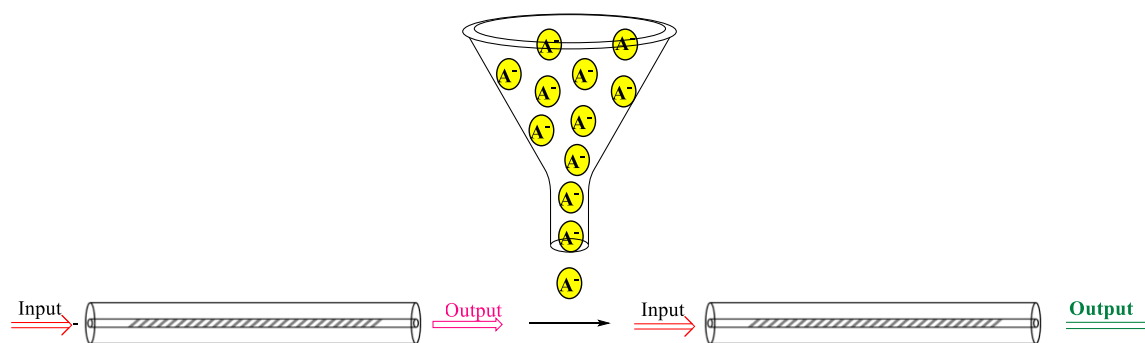
Um tema atual é o desenvolvimento de sensores baseados na tecnologia da fibra ótica, e neste caso concreto, redes de Bragg inclinadas gravadas em fibra ótica (Tilted Fiber Bragg Grating, TFBG). Estas apresentam propriedades únicas, tornando-as extremamente "sensíveis" a alterações do exterior. Adicionalmente, estas são estáveis mesmo em ambientes agressivos, imunes a interferências eletromagnéticas, apresentam resistência mecânica e à corrosão, capacidade de detetar vários analitos e podem ser integradas em várias estruturas ou equipamentos.²¹² As TFBGs podem ser funcionalizadas, podendo assim melhorar a seletividade dos sensores a analitos específicos, sendo o princípio de funcionamento dos mesmos baseado na alteração do índice de refração.^{212,213} Este é um parâmetro de extrema importância no campo de sensores químicos e biológicos.

Na vasta gama de espécies químicas e biológicas que podem ser detetadas por estes sensores incluem-se: antígenos/anticorpos,²¹⁴ ácidos nucleicos,^{215,216} hidrogénio,²¹⁷ toxinas,²¹⁸ explosivos^{219,220} e outras pequenas moléculas.²²¹ Por essa razão, apesar de já existirem várias empresas a comercializar sensores de fibras óticas, há ainda uma grande margem de crescimento para a investigação nesta área, tal como é evidenciado pelo elevado número de publicações. Na última década, o desenvolvimento de sensores de fibra ótica para a deteção de compostos químicos tornou-se um interessante tema de investigação devido à possibilidade de produção de sensores de pequeno tamanho, capazes de funcionar remotamente e de forma contínua em contacto com a amostra. Os primeiros estudos com fibras óticas estavam direccionados para o uso de sensores óticos para controlar parâmetros físicos como deformação, temperatura e pressão, mas nos anos 80 os investigadores perceberam que esses sensores também poderiam ser aplicados nas mais variadas áreas, desde o controlo de qualidade de alimentos e medicamentos, até a análise de analitos em amostras ambientais ou mesmo em amostras biológicas.^{222,223}

Hoje em dia, podemos configurar sensores de fibra ótica de diversos modos, onde podemos destacar as redes de Bragg em fibra ótica (FBG). Pode-se definir um sensor como um dispositivo que deteta ou sente um analito através da alteração de um parâmetro específico ou um parâmetro geral do meio, sendo capaz de emitir um qualquer sinal mensurável. As FBG uniformes consistem, na sua forma mais básica, numa perturbação periódica do índice de refração do núcleo de uma fibra ótica, ao longo do seu eixo longitudinal. A geração das perturbações de índice (gravação de rede de Bragg) é efetuada

oticamente numa fibra fotossensível. Com as técnicas atuais, é possível gravar redes de Bragg com diferentes propriedades óticas, podendo ser desenhadas de acordo com os requisitos do processamento ótico pretendido. Em adição à elevada flexibilidade de gravação de redes com diferentes respostas de amplitude e de fase, a compatibilidade com a fibra de transmissão permite reduzir ao mínimo as perdas de inserção e baixar os custos de produção. Das várias fibras óticas em desenvolvimento podem-se destacar, fibras de sílica microestruturadas,^{224,225} fibras poliméricas microestruturadas²²⁶ e fibras óticas de plástico.²²⁷ No âmbito deste trabalho foram usadas fibras óticas de sílica com redes de Bragg inclinadas, em que, à semelhança de uma rede de Bragg uniforme, consistem numa modulação do índice de refração, no entanto esta apresenta uma inclinação em relação ao eixo da fibra ótica.

Muito recentemente, um estudo efetuado em colaboração com o Instituto de Telecomunicações de Aveiro (IT-Aveiro) demonstrou um método fácil, prático e preciso para determinar a concentração de aniões em solução.²²⁸ Neste trabalho foi avaliada a utilização de uma TFBG como sensor de aniões capaz de detetar a concentração de três espécies aniónicas diferentes (acetato, fluoreto e cloreto, na forma de sais) em acetato de etilo. A presença destas espécies químicas foi detectada pela alteração do índice de refração circundante das diferentes concentrações de aniões. Para este efeito foi desenvolvido um novo método de modulação do sinal ótico com base no cálculo do desvio padrão entre o espectro de transmissão de uma TFBG e a sua função de “*smoothing*”. O primeiro estudo consistiu na determinação do tempo necessário de dissolução dos aniões acetato, fluoreto e cloreto. Este passo foi investigado através da monitorização da variação do desvio padrão causada por uma adição de uma pequena alíquota de anião ao reator. Determinado o tempo de dissolução dos aniões, foram efetuadas várias titulações tendo-se determinado sensibilidades distintas a concentrações mais baixas dos aniões (Esquema 35).²²⁸



Esquema 35

Este foi o primeiro trabalho a ser publicado onde se utiliza sensores de fibra ótica para o reconhecimento e quantificação de aniões, utilizando para tal a variação do índice de refração circundante em solução. O *output* (sinal de saída) é constante quando a fibra ótica não está em contacto com qualquer anião; ao se fazer a titulação e aumentar a quantidade de anião em solução foi obtida uma variação no sinal de resposta. Neste trabalho, cada anião foi investigado individualmente, apesar de um ambiente real ser bem mais complexo, ou seja, pode conter vários aniões em solução. Portanto, a seletividade de sensores baseados em TFBG deve constantemente ser desenvolvida para permitir a sua utilização em aplicações reais. Uma das possibilidades para conseguir uma maior seletividade para um anião, seria, por exemplo, decorar a superfície do sensor (fibra ótica) com quimiossensores seletivos. Existindo já vários quimiossensores com afinidade para aniões específicos, resta agora explorar a sua inclusão em fibras óticas.

4.4.1 Funcionalização de fibras óticas

No caso particular de utilização de nanomateriais para funcionalizar a superfície das fibras, diferentes estratégias têm sido investigadas. Por exemplo, a combinação de fibras óticas com nanopartículas de sílica (NPS) tem permitido o desenvolvimento de sensores de elevada sensibilidade com um foco de interesse particular para aplicações biológicas. A funcionalização de NPS e fibras óticas por ligação covalente de recetores/hospedeiros moleculares seletivos para determinados analitos, revelou apresentar um elevado grau de afinidade e seletividade para diferentes espécies químicas.²²⁹

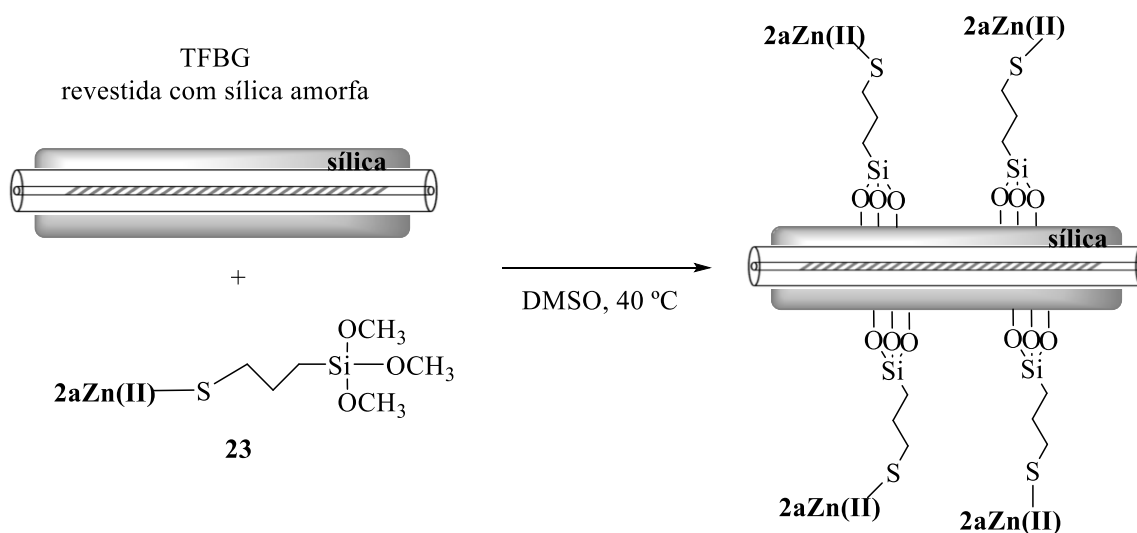
Neste subcapítulo o objetivo principal foi estudar a funcionalização de fibras óticas, covalentemente e/ou supramolecularmente, com quimiossensores de aniões sintetizados anteriormente com o intuito de aumentar a especificidade/sensibilidade dos sensores de fibra ótica, sendo expectável obter-se uma resposta diferente para cada anião a detetar.

Assim, a primeira estratégia da nossa investigação foi tentar acoplar o quimiossensor porfirínico **2aZn(II)** diretamente a dois tipos de amostras de fibra ótica, uma funcionalizada com sílica amorfa e outra cuja superfície foi previamente corroída.[†] Foram escolhidas estas

[†] As fibras óticas, corroídas e revestidas com sílica amorfa, foram gentilmente cedidas pelos grupos de investigação do IT-Aveiro e CICECO, para se poder estudar as diferentes estratégias de acoplamento dos quimiossensores.

amostras de fibra ótica constituídas com sílica, pois assim podia-se aplicar o conhecimento adquirido na funcionalizar das NPS.

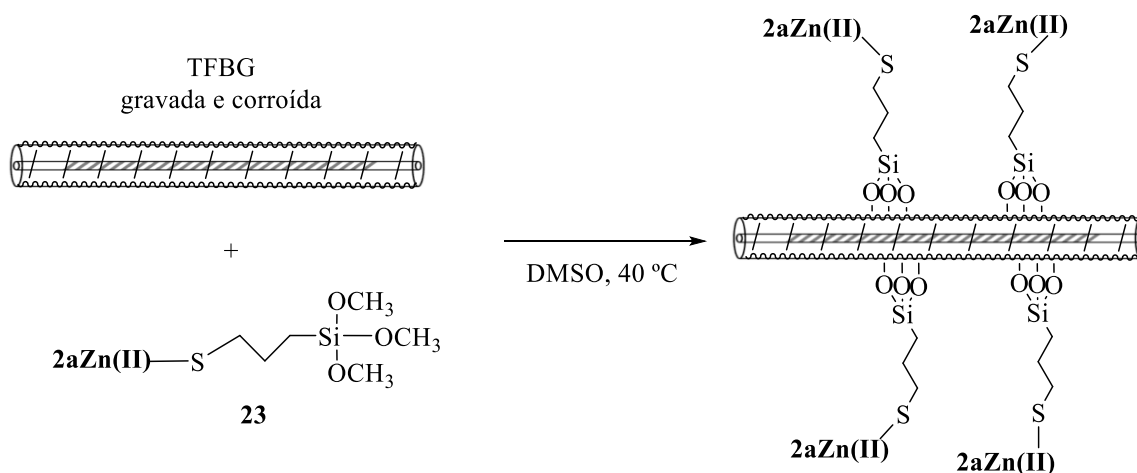
Para se poder obter uma solução bastante concentrada do quimiossensor **2aZn(II)** num pequeno volume, as reações de acoplamento com as fibras óticas foram efetuadas em tubos de RMN. Em dois tubos de RMN foram adicionados uma solução de DMSO com a porfirina **2aZn(II)**, MPTS e TEA e foram deixadas reagir a 40 °C durante 12 horas. Após este tempo, por análise por TLC, verificou-se que toda a porfirina de partida tinha sido consumida. De seguida, em cada tubo de RMN foram adicionados alguns pedaços das amostras de fibra ótica. No tubo de **RMN A** foram adicionadas as amostras de fibra ótica funcionalizada com sílica na superfície (Esquema 36) e no caso do tubo de **RMN B** foram adicionadas as amostras de fibra ótica corroída (Esquema 37). Foram deixadas a reagir durante a noite a 40 °C.



Esquema 36

Após este tempo, os materiais resultantes foram então filtrados por uma membrana com a ajuda de um funil de Buchner, lavando muito bem as fibras óticas para retirar a porfirina que não reagiu. No caso da reação do tubo de **RMN A**, tubo que continha as fibras óticas revestidas com sílica, a camada de sílica que revestia a fibra ótica saiu e esta foi retida na membrana. A sílica aparentava ter uma cor roxa, mostrando assim que houve acoplamento do quimiossensor **2aZn(II)** à sílica, no entanto a fibra ótica perdeu o revestimento total da sílica. No caso da reação no tubo de **RMN B**, as fibras óticas foram bem lavadas,

apresentando no final uma cor roxa. Em ambos os casos os solventes de lavagem foram retidos para se calcular a quantidade de quimiossensor que não reagiu.



Esquema 37

Com estes resultados preliminares foi possível delinear qual das duas estratégias seria melhor seguir. Em colaboração com o Professor Tito Trindade, CICECO, foi sugerida a utilização do quimiossensor **2a** complexado com zinco, o quimiossensor **2aZn(II)**, para facilitar a posterior caracterização com os equipamentos de análise, pois o material final iria conter zinco na sua estrutura. Numa primeira análise tentou-se caracterizar as fibras óticas corroídas funcionalizadas com o quimiossensor **2aZn(II)** por microscopia eletrónica de transmissão (TEM) e microscopia eletrónica de varrimento (SEM). Infelizmente, pela análise TEM não foi possível detetar o sinal do zinco, muito possivelmente devido à fraca abundância deste relativamente ao SiO₂ da fibra ótica. No entanto as imagens de SEM mostram claramente uma mudança no nível da textura superficial das fibras após a funcionalização (Figura 106).

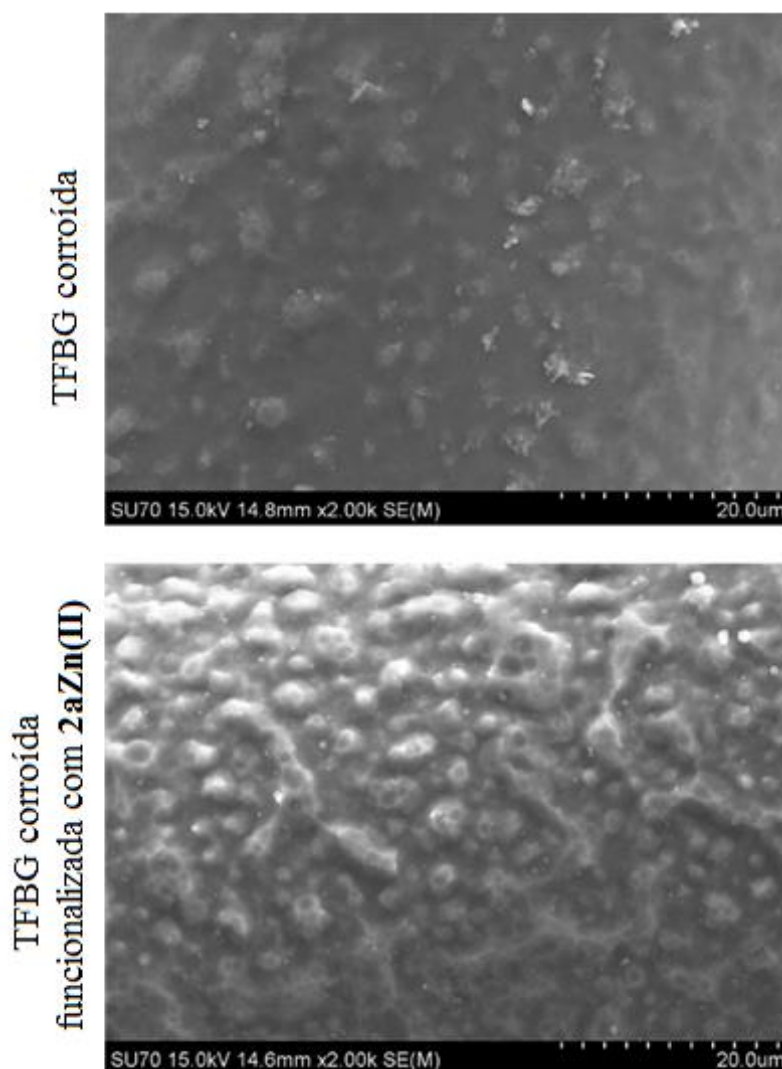


Figura 106 – Análise SEM à fibra ótica corroída (superior) e à fibra ótica corroída funcionalizada com o quimiossensor **2aZn(II)** (inferior).

Outra possibilidade de caracterizar o nosso material final foi por espectroscopia de fotoeletrões de raios-X (XPS). Esta técnica de caracterização permite a identificação dos elementos presentes numa dada amostra em análise, bem como do seu estado químico, partindo de pequenas variações nas energias de ligações. A energia de ligação dos elementos está relacionada com o meio em que estão inseridos, podendo-se extrair informação acerca do estado eletrónico do próprio átomo. Esta é uma técnica muito importante quando se tem por objetivo obter análises quantitativas, bem como informações sobre ligações química dos elementos à superfície. A estimativa das concentrações de elementos é feita a partir do número de fotoeletrões emitidos. O espectro de fotoeletrões obtido através da técnica de XPS permite obter uma distribuição eletrónica dos átomos superficiais do sólido em análise,

permitindo a obtenção de energias características de todos os átomos, através do recurso a tabelas.

Para confirmar o acoplamento com sucesso do quimiossensor à fibra ótica fez-se análise XPS à fibra ótica corroída e à fibra ótica corroída funcionalizada com o quimiossensor. Fez-se análise a elementos que estejam presentes na fibra ótica tais como carbono, oxigénio, silício e a elementos químicos presentes no quimiossensor tais como zinco, oxigénio, flúor, enxofre e azoto. O resultado esperado seria que a deteção dos elementos zinco, flúor e enxofre indicariam que o acoplamento do quimiossensor à fibra ótica tinha ocorrido com sucesso. Pela análise por XPS foi possível detetar os elementos carbono, oxigénio e enxofre na fibra ótica corroída (Figura 107). O elemento azoto foi também detetado em pouca abundância muito provavelmente a alguma contaminação.

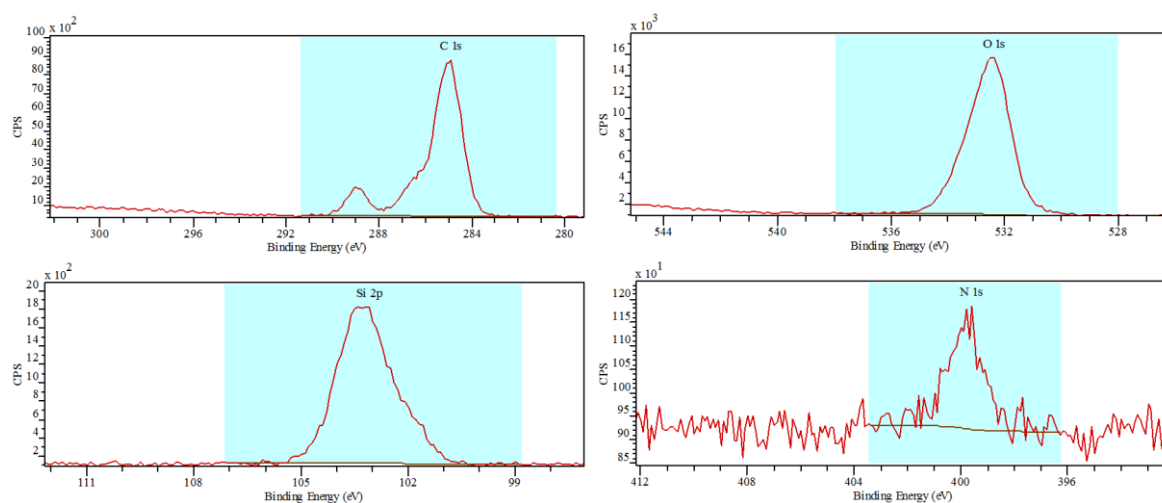


Figura 107 – Análise XPS da fibra ótica corroída.

A análise XPS à fibra ótica corroída funcionalizada com o quimiossensor apresenta um sinal bastante forte dos elementos carbono, oxigénio e enxofre, comparado com a intensidade do sinal referente aos elementos azoto, enxofre e zinco, muito provavelmente devido à quantidade de quimiossensor em relação à fibra ótica ser muito menor (Figura 108). A deteção destes elementos é uma indicação positiva de que o quimiossensor está presente e ligado covalentemente à fibra ótica. Também foi possível determinar a presença do elemento flúor, no entanto numa quantidade inferior.

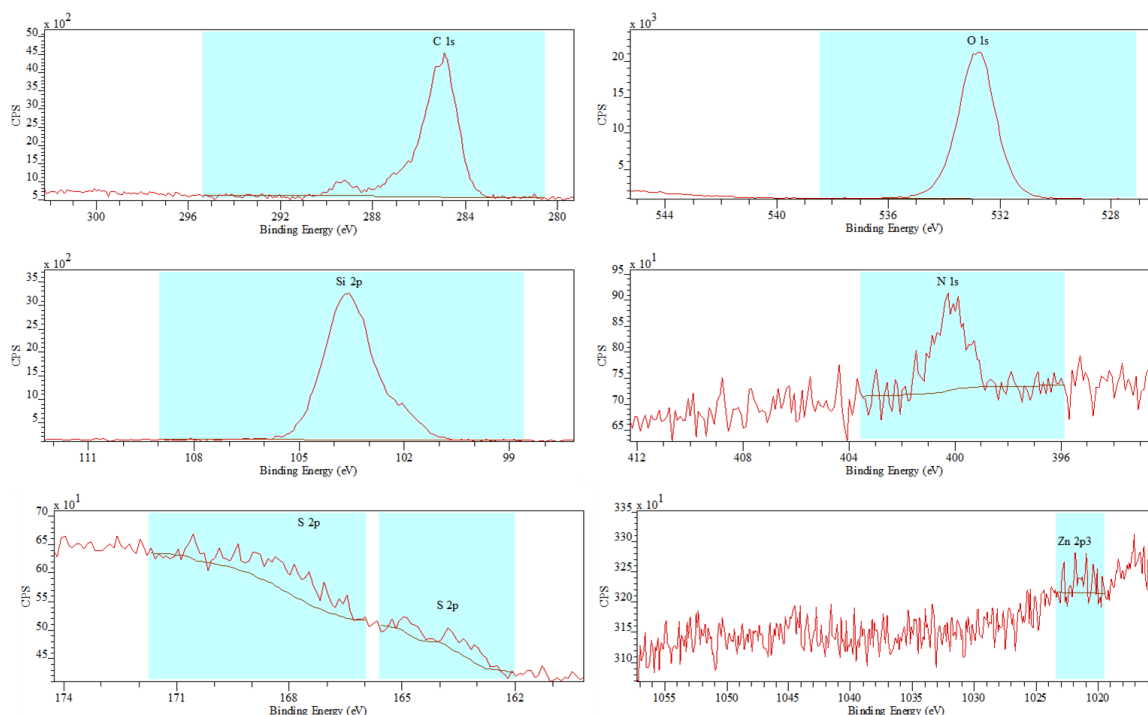
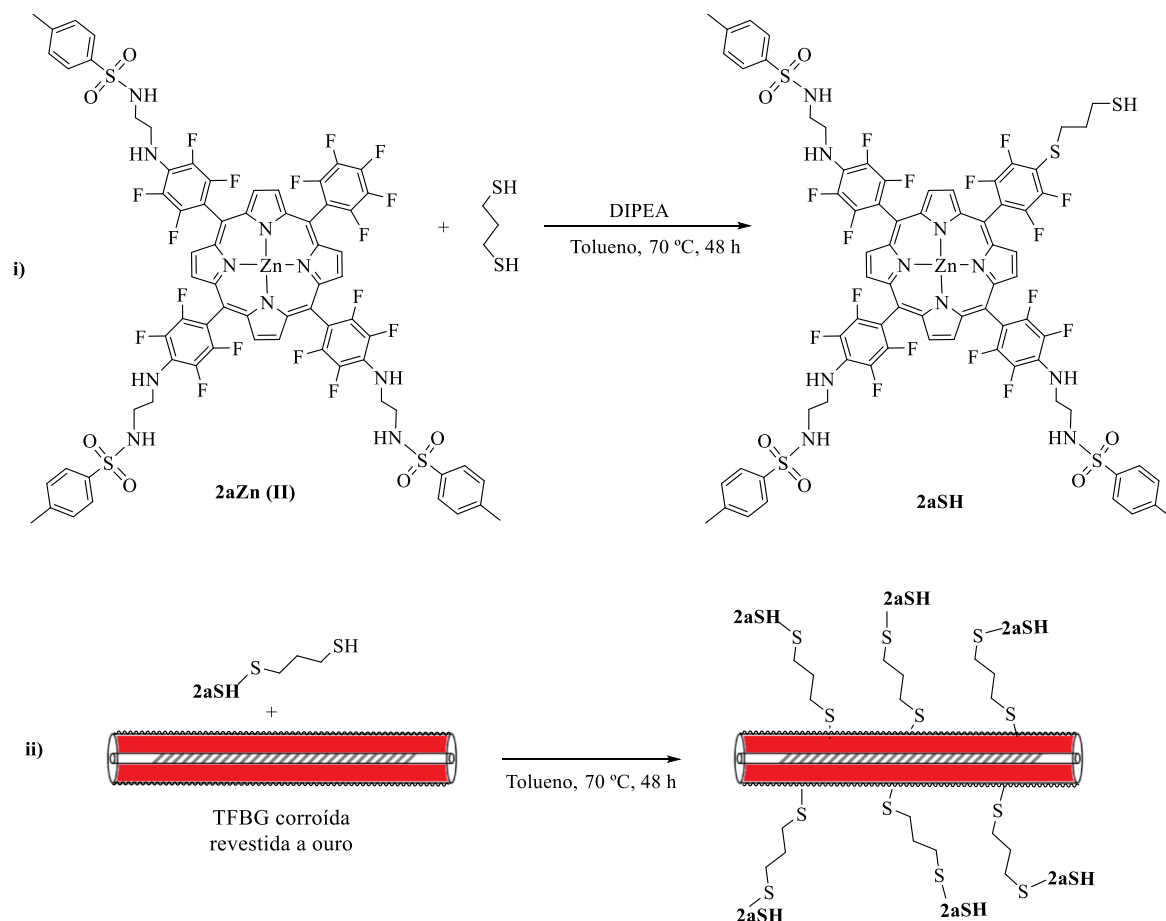


Figura 108 – Análise XPS da fibra ótica corroída funcionalizada.

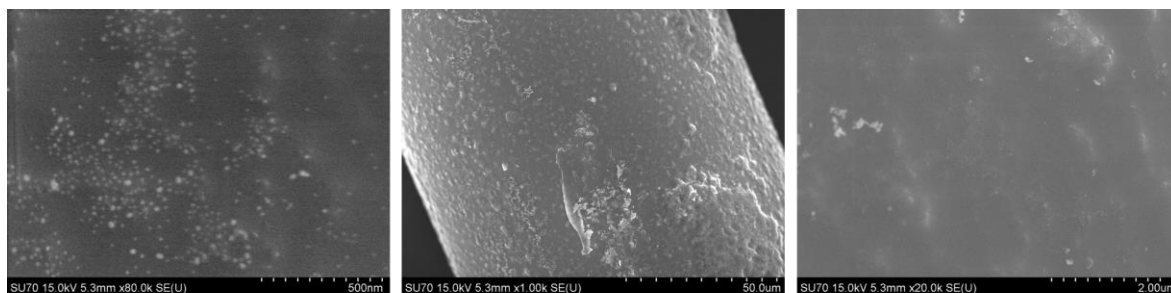
Foi também testada uma outra abordagem de revestir as fibras óticas com o quimiossensor. Esta consistia em acoplar o quimiossensor porfirínico a fibras óticas corroídas revestidas com ouro.[‡] O processo de acoplamento ocorreu em dois passos: primeiro foi necessário funcionalizar o quimiossensor **2aZn(II)** com o 1,3-propanoditiol e só depois é que foi efetuado o acoplamento à fibra ótica. Num *eppendorf* foi dissolvido o quimiossensor **2aZn(II)** em tolueno e adicionado DIPEA e 1,3-propanoditiol que foi deixado reagir a 70 °C durante 48 horas. Findo este tempo, por análise de TLC, foi confirmado o consumo total da porfírina de partida. Foi então adicionado vários pedaços de fibra ótica revestida com ouro à mistura reacional e deixou-se reagir por mais 48 horas a 70 °C (Esquema 38). O material resultante da reação foi filtrado por uma membrana com a ajuda de um funil de Buchner, lavando muito bem as fibras óticas com uma mistura de diclorometano/metanol para retirar toda a porfírina que não reagiu.

[‡] O processo de revestimento da fibra ótica com ouro foi efetuado pelo grupo de investigação do CICECO e que foram gentilmente cedidas para se efetuar o posterior acoplamento com o quimiossensor.

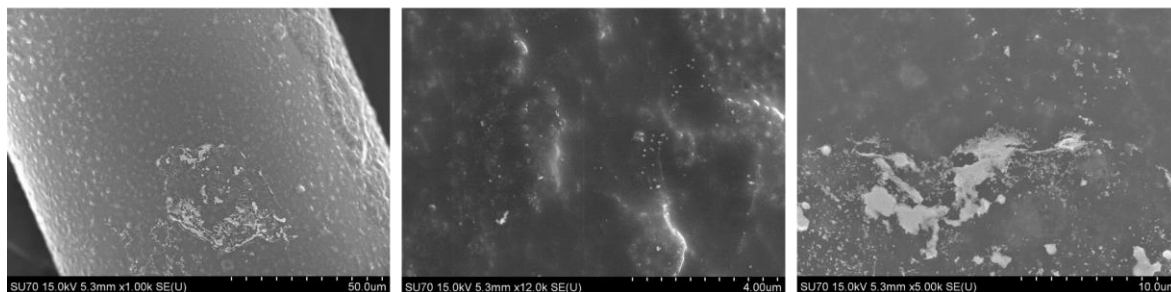


Esquema 38

Após funcionalização das fibras óticas revestidas com ouro estas foram caracterizadas por SEM e por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR). Pela técnica de SEM é possível verificar diferença entre a fibra ótica revestida com ouro (Figura 109) e a fibra ótica revestida com ouro funcionalizada (Figura 110). Como se pode verificar na Figura 109, antes da funcionalização com o quimiossensor, a fibra ótica tinha uma superfície lisa e uniforme enquanto na Figura 110 é possível verificar diferenças, nomeadamente na superfície do revestimento o que demonstra o acoplamento com sucesso do quimiossensor.



TFBG corroída revestida com ouro

**Figura 109** – Imagens SEM da fibra ótica revestida com ouro a várias ampliações.

A técnica de SEM está geralmente associada à técnica de espectroscopia dispersiva de raios-X (EDS), que permite uma análise semi-quantitativa dos elementos químicos na superfície dos materiais. O princípio de funcionamento baseia-se na incidência de um feixe de elétrons num ponto da superfície da amostra-alvo, e a subsequente recolha dos sinais eletrónicos emitidos pelo material-alvo. As amostras para poderem ser caracterizadas por microscopia eletrónica têm de apresentar boa condutividade elétrica superficial. A não existência de condutividade superficial leva à necessidade de metalização, através da aplicação de um revestimento ultra-fino, de ouro ou carbono. No nosso caso específico como a fibra ótica está revestida com uma camada de ouro esta técnica de análise foi importante. Pela técnica EDS-SEM foi apenas caracterizada a fibra ótica revestida com ouro funcionalizada (Figura 111).

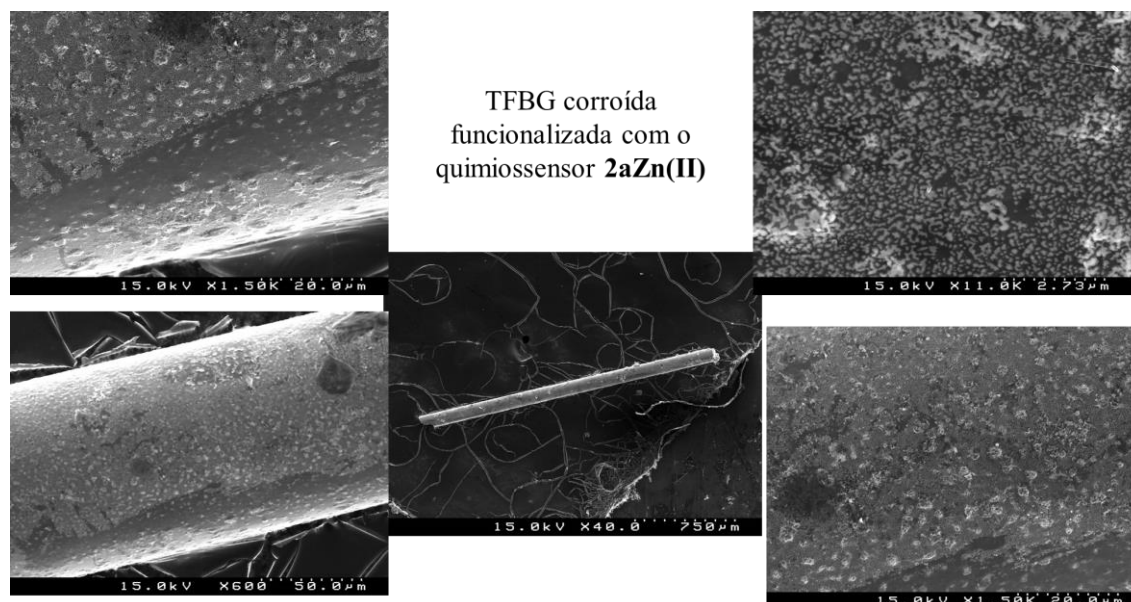


Figura 110 – Imagens SEM da fibra ótica revestida com ouro funcionalizada com o quimiossensor **2aZn(II)** a várias ampliações.

A análise por EDS-SEM não foi conclusiva, pois não se conseguiu detetar o elemento zinco. Este resultado poderá dever-se à reduzida quantidade de material acoplado, pois até o sinal correspondente ao elemento Au só se consegue ver no espectro com bastante ampliação. O elemento Si e O foi detetado em grande quantidade em relação aos outros elementos, pois são os constituintes da fibra ótica.

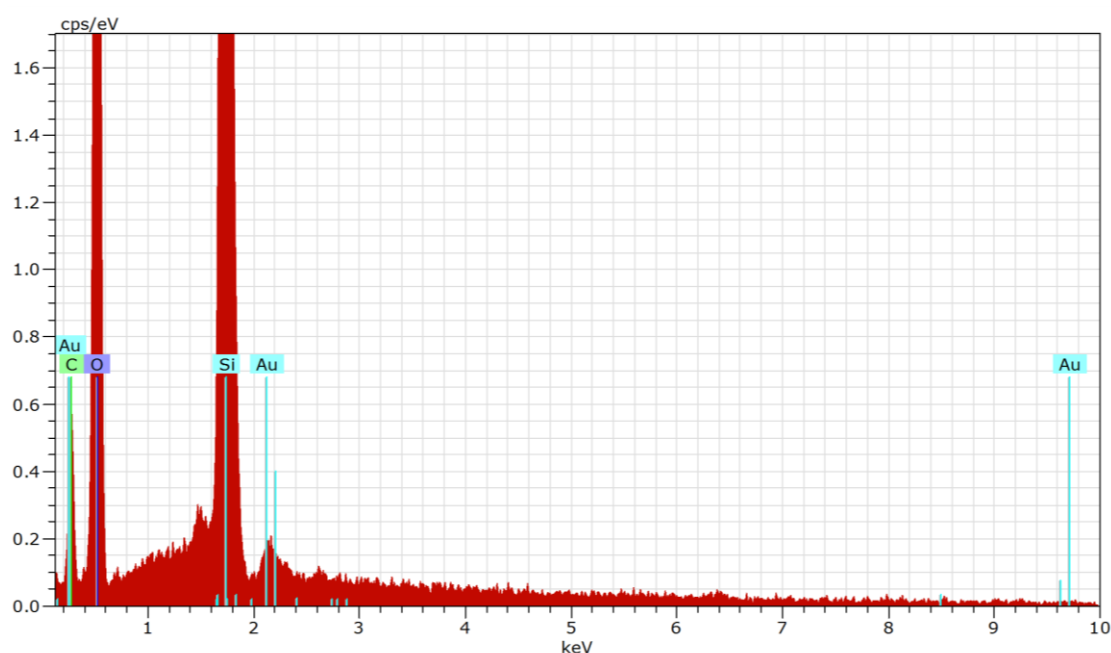


Figura 111 – Espectro da análise EDS-SEM da TFBG corroída revestida com ouro e funcionalizada com o quimiossensor **2aZn(II)**.

A Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada é uma técnica utilizada para se obter espectros no infravermelho de amostras como géis, adesivos, pó e pequenas partículas que não podem ser analisados pelos métodos normais, como pastilhas ou filmes. O princípio de funcionamento deste tipo de espectroscopia baseia-se na característica de que quando um feixe de radiação passa de um meio mais denso (cristal de ATR) para um meio menos denso (amostra), ocorre uma reflexão. Caracteriza-se basicamente por uma espectroscopia de reflexão interna na qual a amostra é colocada em contato com um elemento de reflexão interna de alto índice de refração. A radiação atravessa o elemento de reflexão e finalmente é refletida e direcionada para um detetor conveniente. O uso de ATR geralmente está relacionado com a obtenção de espectros de amostras de difícil manuseamento. No entanto, o seu uso tem sido cada vez maior, pois os espectros gerados por esta técnica são obtidos rapidamente, mesmo com um grande número de amostras para analisar. Por análise FTIR-ATR foi possível verificar as diferenças entre a fibra ótica revestida com ouro, fibra ótica revestida com ouro funcionalizada e a porfirina (Figura 112).

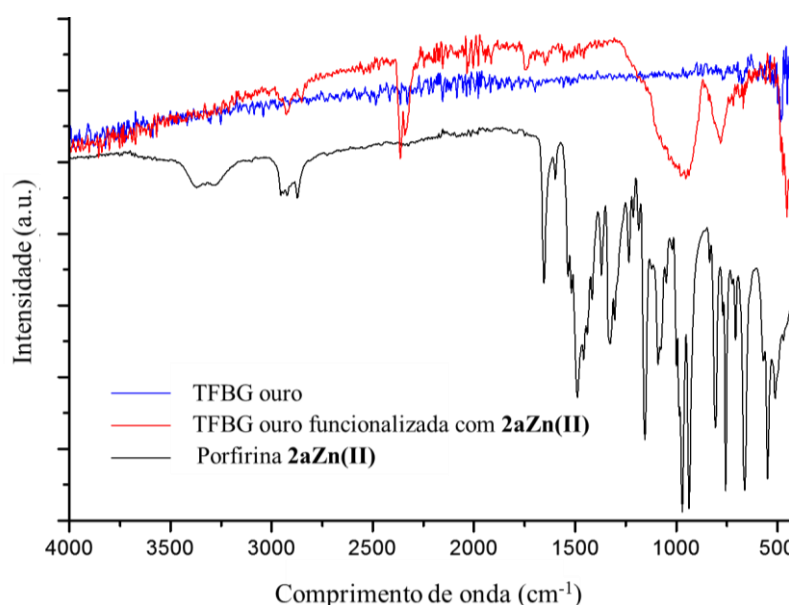


Figura 112 – Espectro de FTIR-ATR das diferentes fibras óticas e da porfirina **2aZn(II)**.

Como verificado no espectro, a fibra ótica revestida com ouro (linha azul) não mostra nenhuma variação significativa no detetor enquanto a fibra ótica revestida a ouro funcionalizada com o quimiossensor (linha vermelha) já apresenta ter algumas variações semelhantes ao perfil da porfirina **2aZn(II)** (linha preta).

Depois de efetuadas as várias caracterizações e os diferentes tipos de acoplamento do quimiossensor aos três revestimentos de fibras óticas (sílica, corroída e ouro), seguiu-se para a etapa mais importante e crucial que foi acoplar o quimiossensor à TFBG para depois se estudar a potencialidade do sensor desenvolvido. Este procedimento foi bastante delicado e levou algum tempo, pois em todo o comprimento de fibra ótica que ficará no interior do reator terá que ser removido o revestimento de acrilato que as fibras óticas normalmente contêm e que lhe dá maior resistência mecânica. A remoção desta proteção torna-as bastantes frágeis e num mínimo descuido podem-se partir facilmente. Para além disso, a fibra ótica ainda tinha sido previamente corroída, o que contribuiu para uma maior fragilidade. Embora, as fibras óticas possam ser fundidas inúmeras vezes, caso a fibra ótica se partisse na zona da rede de Bragg ou na parte que se encontrava no interior do reator, o trabalho tinha que ser começado de novo. Num pequeno reator em forma de T, foi então colocada na zona central a TFBG corroída. De seguida foi adicionada uma solução bastante concentrada do quimiossensor **2aZn(II)** já funcionalizado com o MPTS, como demonstrado anteriormente no Esquema 37, e DMSO suficiente para que a fibra ótica corroída estivesse totalmente submersa. A mistura reacional foi deixada a reagir durante 48 horas numa câmara climatizada a 40 °C (Figura 113) e os espectros de transmissão da TFBG foram monitorizados usando para o efeito um analisador ótico de redes (ONA) com uma resolução em comprimento de onda de 4,3 pm.



Figura 113 – Montagem reacional usada para funcionalizar a TFBG com o quimiossensor **2aZn(II)**.

De modo a verificar se o acoplamento do quimiossensor à fibra ótica introduzia alterações nos espectros registados pelo ONA, foram registados o espectro inicial (em DMSO) e o final (após a reação e lavagem da fibra ótica). Verificou-se alteração no espectro de transmissão antes e após 48 horas de reação, sendo um bom indicativo que ocorreu a reação (Figura 114). Passado o tempo de reação, as fibras óticas foram lavadas várias vezes em DMSO, depois com uma solução de clorofórmio/metanol e finalmente com acetato de etilo, por ser o solvente em que os estudos posteriores iriam ser realizados. Como referido anteriormente, as TFBGs conseguem detetar a presença de diferentes aniões a várias concentrações em acetato de etilo. O estudo efetuado mostrou que o espectro de transmissão mantinha-se constante quando a TFBG não estava em contacto com qualquer anião e quando feita uma titulação existia uma variação no sinal. O objetivo de acoplar um quimiossensor orgânico é tentar aumentar a sensibilidade e seletividade do sensor para a deteção de aniões.

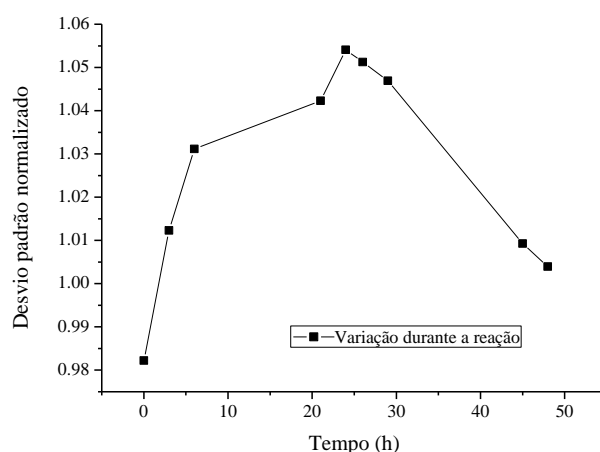


Figura 114 – Variação da resposta da TFBG durante a reação de funcionalização.

4.4.2 Fibras óticas funcionalizadas como sensor de aniões

As condições usadas para se efetuar este estudo foram as previamente estabelecidas no trabalho publicado.²²⁸ A rede de Bragg usada foi gravada em fibra ótica fotossensível (Fiber Core PS1250/1500), com um comprimento total de 15 mm e um ângulo de inclinação de 8 °. A TFBG funcionalizada com a porfirina foi colocada num reator de vidro em forma de “T”, em que ambos os lados da fibra foram fixados em dois suportes (Figura 113). Um magnete foi colocado no reator para garantir a homogeneização da solução. Todos os ensaios foram realizados em acetato de etilo a 23,0 °C, com a temperatura controlada numa câmara climatizada. A temperatura é um parâmetro de extrema importância que é necessário

controlar, uma vez que o princípio do funcionamento do sensor proposto baseia-se em alterações do índice de refração, e esta propriedade é dependente da temperatura. Caso os ensaios não ocorressem em condições de temperatura controlada seria pois necessário aos resultados obtidos subtrair o efeito da temperatura, para assim se obter apenas a variação do índice de refração resultante da contribuição da adição do anião ao acetato de etilo.

As titulações foram realizadas usando soluções stock com concentrações conhecidas de aniões ($0,03 \text{ mol/dm}^3$). Efetuou-se o estudo com diferentes aniões, tais como acetato, fluoreto e di-hidrogenofosfato, todos na forma de sais de tetrabutylamónio. Os estudos de complexação de aniões com a TFBG revestida com a porfirina foram realizados com base na monitorização dos espectros de transmissão da rede de Bragg, recolhidos com o ONA. O intervalo de medida usado foi 1500 a 1565 nm, com uma resolução de 0,0043 nm, um RF de 1000 MHz e uma largura de banda de 300 Hz. Na montagem experimental foi incluído um controlador de polarização e efetuada a normalização antes de se proceder às leituras. As titulações foram seguidas através das perturbações causadas pela presença dos aniões na monitorização dos espectros de transmissão da TFBG. Para cada anião foram efetuadas 2 a 3 titulações.

Para iniciar o ensaio eram efetuadas 5 lavagens com agitação com acetato de etilo, com um período de 10 a 15 minutos cada lavagem. Após as lavagens eram colocados 5 mL de acetato de etilo P.A., ligada a agitação durante 10 minutos e de seguida aguardados 25 minutos sem agitação para a estabilização da solução. Procedia-se de seguida à titulação com aniões. Era adicionado ao reator 50 μL da solução stock de anião e deixava-se em agitação durante 10 minutos. Aguardavam-se 25 minutos sem agitação para a estabilização e registava-se o espectro que seria considerado o nosso ponto zero. Este procedimento era repetido 10 vezes até se obterem as concentrações de $0,003 \text{ mol/dm}^3$. O espectro de transmissão da TFBG registado para cada titulação em acetato de etilo tem um perfil típico como apresentado na Figura 15. Depois dos dados recolhidos, é usado um método de modulação do sinal ótico para quantificar as alterações do índice de refração no espectro de transmissão da TFBG.^{§228} Com um tratamento matemático, cada espectro é convertido a um ponto normalizado.

[§] Os tratamentos matemáticos para se poder apresentar os resultados descritos nesta tese foram gentilmente cedidos pelo Instituto de Telecomunicações de Aveiro (IT-Aveiro).

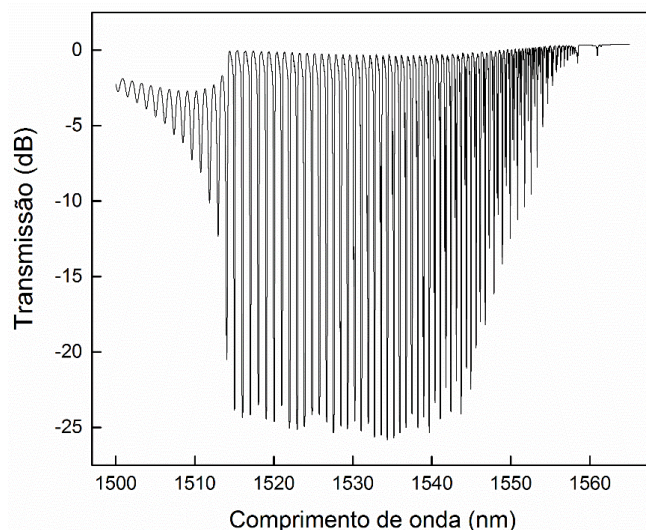


Figura 115 – Espectro de transmissão característico de uma TFBG.

Antes de se efetuarem as titulações com a TFBG funcionalizada com o quimiossensor porfirina, o primeiro estudo efetuado foi verificar qual o efeito dos diferentes aniões na monitorização dos espectros de transmissão apenas na TFBG gravada. Estas leituras são um indicador importante para saber qual a influência dos aniões nas variações registadas nos espectros de transmissão da TFBG. Para isso, num primeiro estudo, fez-se a montagem e num pequeno reator colocou-se apenas a TFBG gravada. Esta foi titulada com os aniões acetato, fluoreto e di-hidrogenofosfato, como se pode verificar nas Figura 116 a Figura 118.

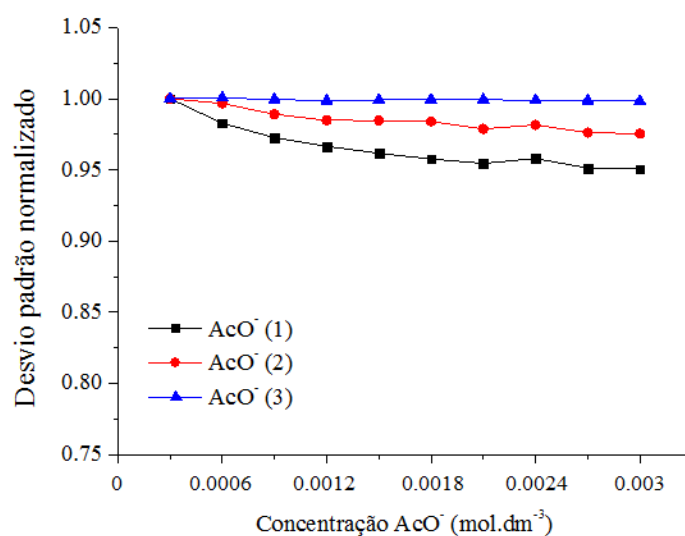


Figura 116 – Monitorização das titulações com uma TFBG com AcO^- ($0,03 \text{ mol/dm}^3$) em acetato de etilo.

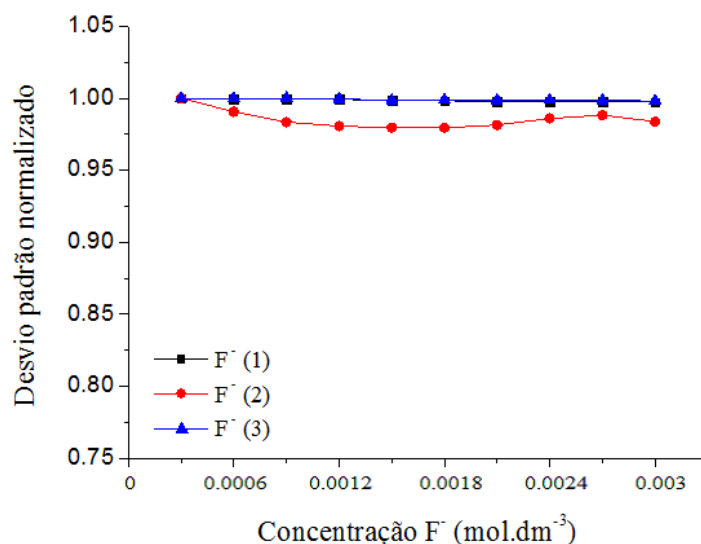


Figura 117 – Monitorização das titulações com uma TFBG com F^- (0,03 mol/dm³) em acetato de etilo.

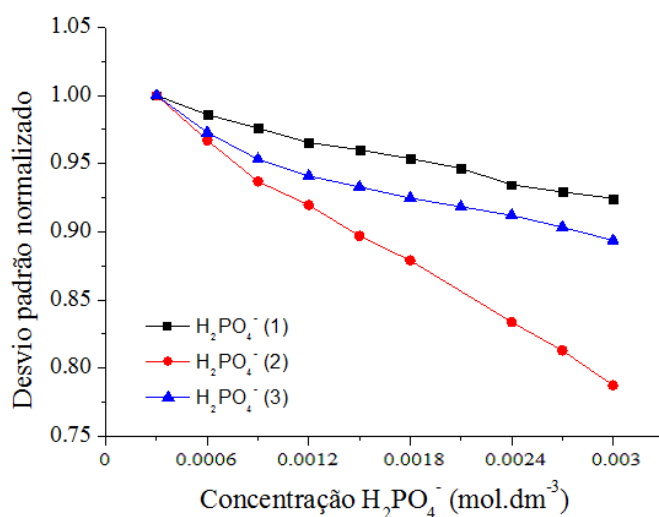


Figura 118 – Monitorização das titulações com uma TFBG com $H_2PO_4^-$ (0,03 mol/dm³) em acetato de etilo.

Não tendo sido obtido um comportamento reprodutivo para cada anião, compararam-se todas as titulações efetuadas. Como se pode verificar na Figura 119 o anião di-hidrogenofosfato é o que induz uma maior variação no desvio padrão, resultado de uma maior variação do índice de refração na solução.

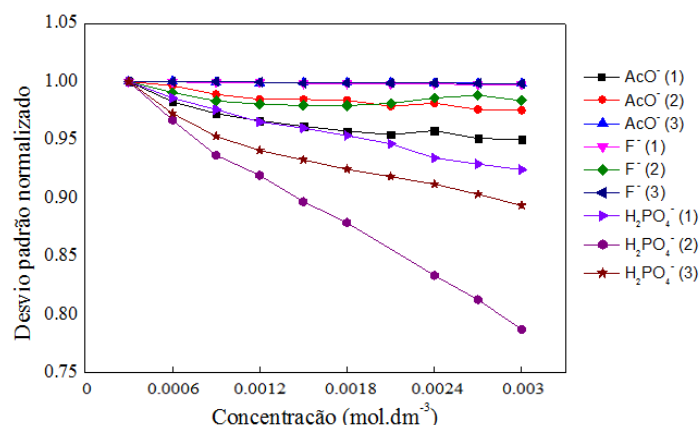


Figura 119 – Sobreposição de todos os valores obtidos nas titulações com a TFBG com os diferentes aniões em acetato de etilo.

Procedeu-se então à titulação com a TFBG gravada e corroída. Neste caso só se titulou com o anião di-hidrogenofosfato, pois foi o que mostrou melhores resultados anteriormente. Os resultados destas titulações foram comparados com os obtidos anteriormente como se pode verificar na Figura 120.

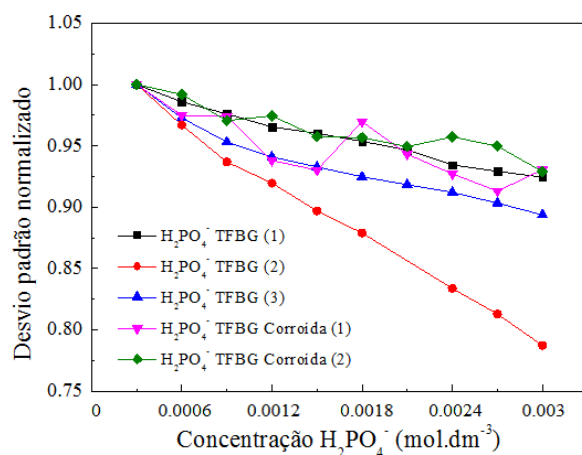


Figura 120 – Titulações das TFBG gravada e corroída com H_2PO_4^- ($0,03 \text{ mol/dm}^3$) em acetato de etilo.

Estudada a resposta da TFBG e da TFBG corroída ao longo das titulações para os diferentes aniões, procedeu-se ao ponto mais importante que foi estudar a interação entre os aniões e a fibra ótica funcionalizada com um quimiossensor. Com o acoplamento de um quimiossensor à fibra ótica esperava-se que esta tivesse uma maior resposta do que as anteriormente estudadas, em termos de sensibilidade. Neste caso voltou-se a titular novamente com os aniões acetato, fluoreto e di-hidrogenofosfato, mas apenas 2 vezes cada anião. Nas Figura 121 a Figura 123 estão representados os espectros das diferentes titulações.

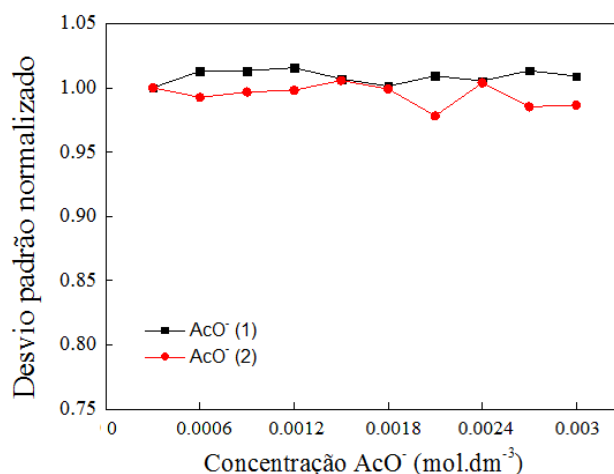


Figura 121 – Monitorização das titulações com uma TFBG funcionalizada com o anião acetato ($0,03 \text{ mol/dm}^3$) em acetato de etilo.

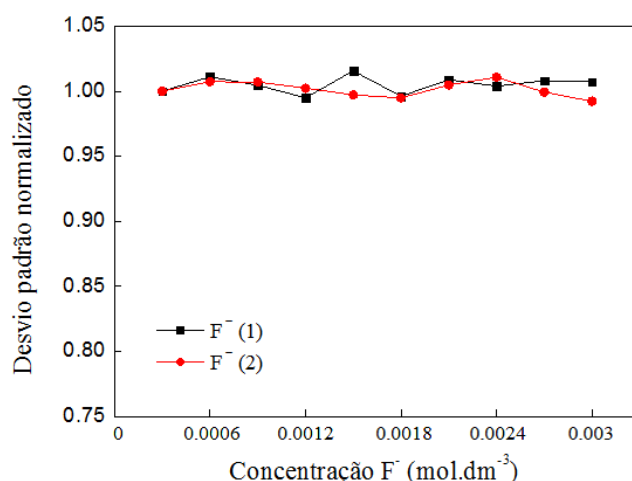


Figura 122 – Monitorização das titulações com uma TFBG funcionalizada com o anião fluoreto ($0,03 \text{ mol/dm}^3$) em acetato de etilo.

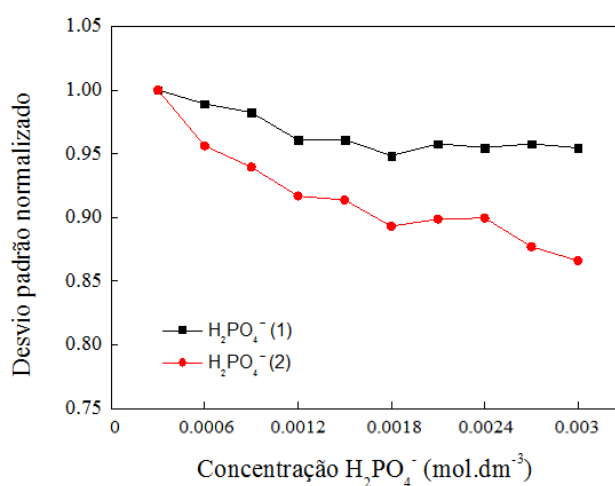


Figura 123 – Monitorização das titulações com uma TFBG funcionalizada com o anião di-hidrogenofosfato ($0,03 \text{ mol/dm}^3$) em acetato de etilo.

Tal como nos casos anteriores, não foi obtido um comportamento reprodutível nas diferentes titulações, principalmente nas titulações com o anião di-hidrogenofosfato (Figura 124). Nesse caso, a variação do índice de refração tem um comportamento esperado, pois vai aumentando com o aumento da concentração de anião em solução, levando a uma diminuição do desvio padrão normalizado. No caso dos aniões acetato e fluoreto, como as variações são mínimas, o erro da análise incide mais nessas curvas.

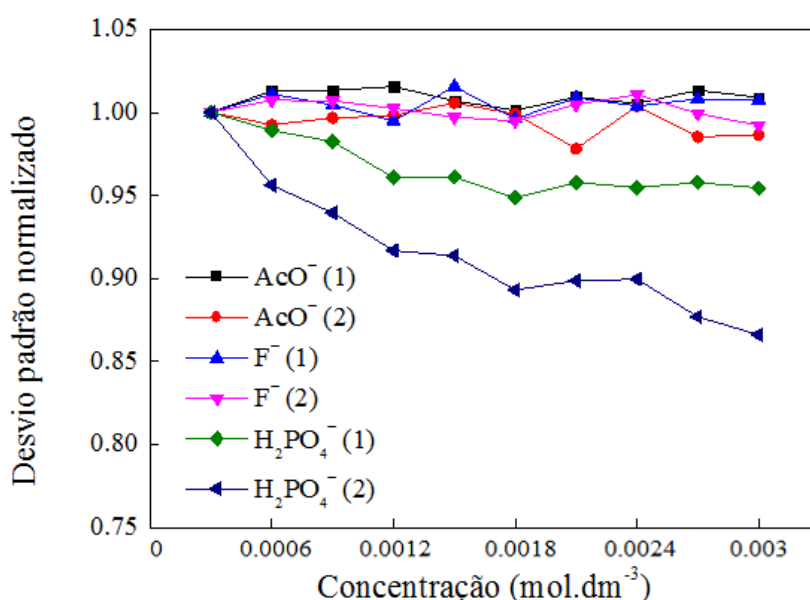


Figura 124 – Sobreposição dos valores obtidos nas titulações da TFBG funcionalizada com os diferentes aniões em acetato de etilo.

Como os resultados obtidos não eram reprodutíveis, mudou-se o procedimento experimental que se tinha seguido até aqui e em vez de 10 adições de anião, apenas se fez 5, mas mais concentradas. Na Figura 125 estão representados os resultados obtidos na titulação com o anião di-hidrogenofosfato nos ensaios anteriores e com as novas condições, usando neste caso a TFBG funcionalizada.

Quando se titulou com o anião di-hidrogenofosfato a concentrações mais elevadas obtiveram-se resultados reprodutíveis e a variação do índice de refração tem um comportamento esperado, pois vai aumentando com o aumento da concentração de anião em solução.

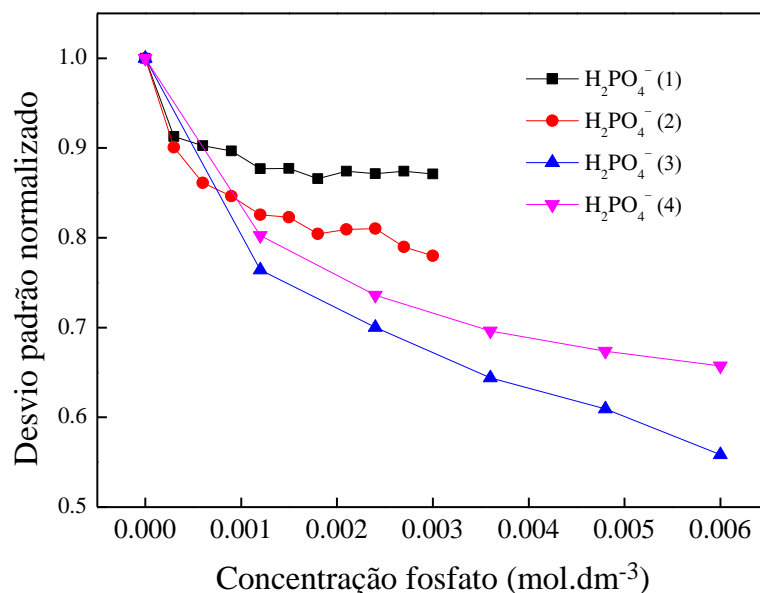


Figura 125 – Comparação de todos os valores obtidos nas titulações da TFBG funcionalizada com o anião di-hidrogenofosfato (0,03 mol/dm³) em acetato de etilo.

4.4.3 Conclusões

Neste subcapítulo foram discutidos diferentes métodos de acoplamento de quimiossensores a fibras óticas e posteriores estudos de interações do novo material híbrido com aniões. As diferentes funcionalizações das fibras óticas foram um sucesso (fibra ótica revestida com sílica, fibra ótica corroída e fibra ótica revestida com filme de ouro) utilizando diferentes métodos de acoplamento, sendo a funcionalização da fibra ótica corroída a que mais se ajustava a este trabalho. Determinado que a funcionalização na fibra ótica corroída era a mais eficiente, foram efetuados os estudos de interação do novo material híbrido com diferentes aniões. As condições usadas foram as previamente estabelecidas no trabalho publicado em colaboração.²²⁸ A TFBG foi colocada num reator em acetato de etilo e foram adicionadas quantidades conhecidas da concentração de anião. Após a adição de anião, o espectro de transmissão da TFBG foi medido e comparado com o obtido inicialmente (apenas acetato de etilo), traçando-se por fim a dependência do desvio padrão normalizado em função das diferentes concentrações do anião. Os resultados não foram reprodutíveis, exceto para o anião di-hidrogenofosfato que além de apresentar o resultado mais consistente é o que induz uma sensibilidade mais elevada. Assim, após análise dos resultados, foi possível verificar que a introdução do quimiossensor na fibra ótica aumenta a sensibilidade da TFBG como sensor. Isto muito provavelmente dever-se-á ao fato do quimiossensor ser sensível para este anião em detrimento dos outros.

Este trabalho, ainda que preliminar, demonstra a real possibilidade de funcionalizar fibras óticas com quimiossensores para modular a resposta destas como sensor de vários analitos a analisar, nomeadamente espécies aniónicas.

CAPÍTULO V

Novos derivados porfirina-C₆₀-origami DNA para dispositivos fotónicos

5 Novos derivados porfirina-C₆₀-origami DNA para dispositivos fotônicos

A história da humanidade é marcada, por exemplo, pela extraordinária expansão da tecnologia no século XX. O desenvolvimento de novas aplicações tem tido um grande impacto na sociedade, sendo evidente em várias áreas, nomeadamente da informática e das tecnologias da informação. A investigação científica e tecnológica na área da nanotecnologia garante inovação em muitas áreas, tais como: materiais, eletrónica, medicina, energia e biotecnologia. Acredita-se que a nanotecnologia será a próxima revolução tecnológica e industrial.²³⁰ Por outro lado, o desenvolvimento de ferramentas de análise avançada oferece níveis únicos de caracterização, tais como a microscopia de força atómica (AFM). É importante lembrar que a evolução tecnológica impulsiona os limites da fronteira científica, permitindo sempre que se excedam as possibilidades de estudar os processos moleculares em maior detalhe, o que abre caminho para novos estudos científicos.²³¹

Uma das metodologias que tenta aproximar as nanociências à ciência molecular é a técnica “*bottom-up*”. Esta centra-se no estudo das interações intermoleculares que podem ser aplicadas na construção controlada de nanoestruturas através de processos de auto-organização (“*self-assembly*”). Ao permitir que os blocos de construção se rearranjem em padrões pré-determinados, novos materiais com estruturas bem definidas podem ser criados.²³²

5.1 Origamis de DNA

Ao longo dos tempos muitos estudos têm sido desenvolvidos com o ácido desoxirribonucleico (DNA), muito devido à sua importância biológica, mas também devido à sua estrutura com características únicas. O DNA é um polímero constituído por duas cadeias, cujas unidades simples são os nucleótidos. Cada nucleotídeo é composto por um grupo fosfato, uma desoxirribose e uma base azotada correspondendo a um dos quatro tipos possíveis: adenina, guanina, citosina e timina (representadas pelas letras A, G, C e T, respetivamente) como apresentado na Figura 126. Estas bases comportam-se de tal forma que existe uma complementaridade entre determinados pares, ou seja, eles são capazes de se organizarem espontaneamente de forma tal que a adenina interage com a sua base conjugada, a timina, e a guanina interage com a citosina (Figura 126). Com estas interações específicas, constitui-se a estrutura espiral da dupla cadeia do DNA. A possibilidade de manipulação da

estrutura DNA, que nos dias de hoje é bem compreendida, abriu portas para uma nova técnica de organização supramolecular, “dobragem nanométrica”, denominada origami de DNA, tendo como inspiração a técnica japonesa *Origami*.

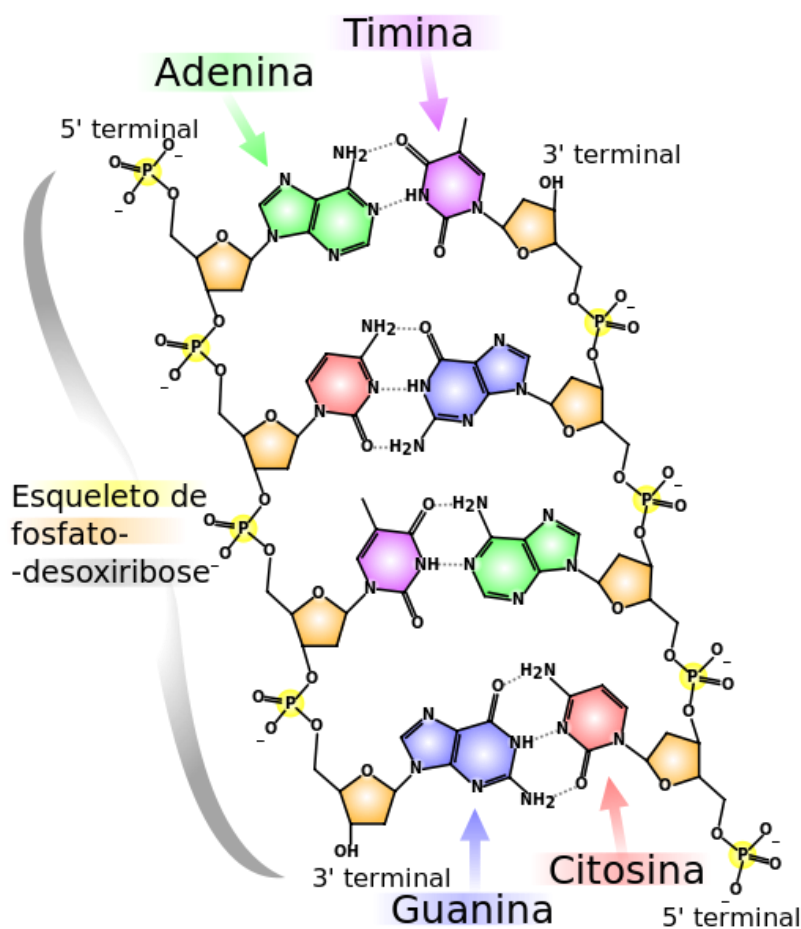


Figura 126 – Estrutura química do DNA.**

A grande vantagem desta metodologia origami de DNA encontra-se na facilidade de organização e preparação de estruturas predefinidas, uma vez que as diferentes unidades são capazes de se encaixarem sozinhas, graças à complementaridade das bases conjugadas. Esta técnica ficou famosa por Rothemund em 2006 e consiste na “dobragem” controlada de uma longa cadeia de DNA do vírus **M13mp18** pela ação de inúmeras cadeias complementares mais pequenas (oligonucleotídeos) que interagem com a cadeia de DNA maior, de tal forma que esta se organiza em diferentes formas bem definidas (Figura 127).^{232,233}

** Figura retirada da Wikipédia. https://pt.wikipedia.org/wiki/ácido_desoxirribonucleico

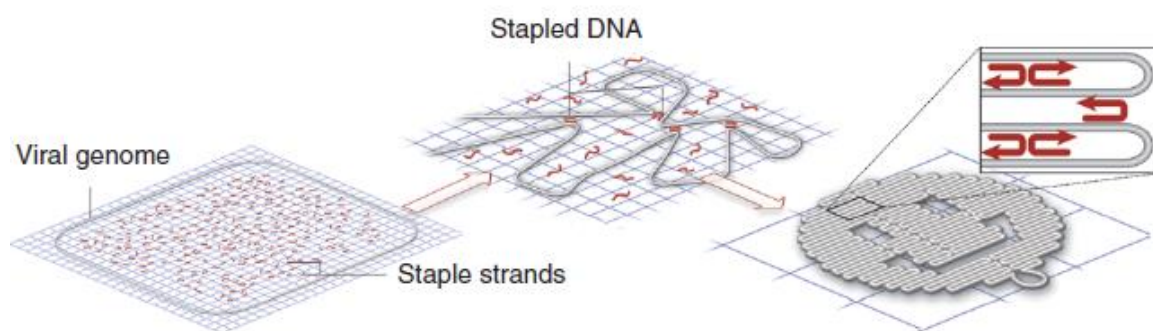


Figura 127 – Moldagem do DNA para criar formas e geometrias.²³²

As excepcionais características do DNA fazem da técnica do origami de DNA uma metodologia muito poderosa e robusta para a construção de nanoestruturas com formas bem definidas. Trata-se de uma metodologia rápida, com processos experimentais simples, e eficientes (Figura 128).²³³

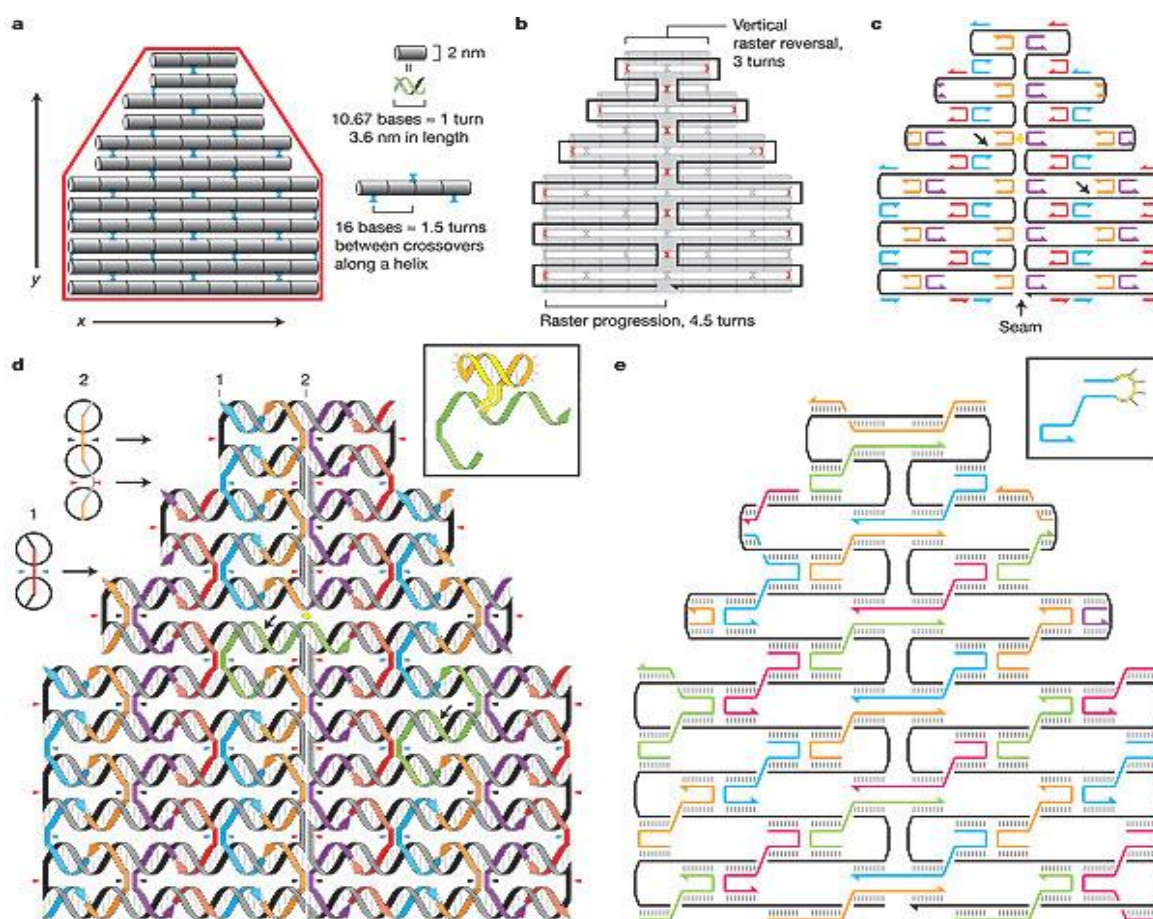


Figura 128 – Projeção da construção pela técnica origami de DNA.²³³

O rearranjo do origami de DNA permite a disposição de nucleótidos com precisão manométrica em locais específicos proporcionando assim estruturas como estrelas, triângulos, textos, “smiles” e até um mapa do continente americano, tudo à escala nanométrica (Figura 129).²³³ As estruturas bidimensionais obtidas pela técnica de origami de DNA podem ser visualizadas por AFM.

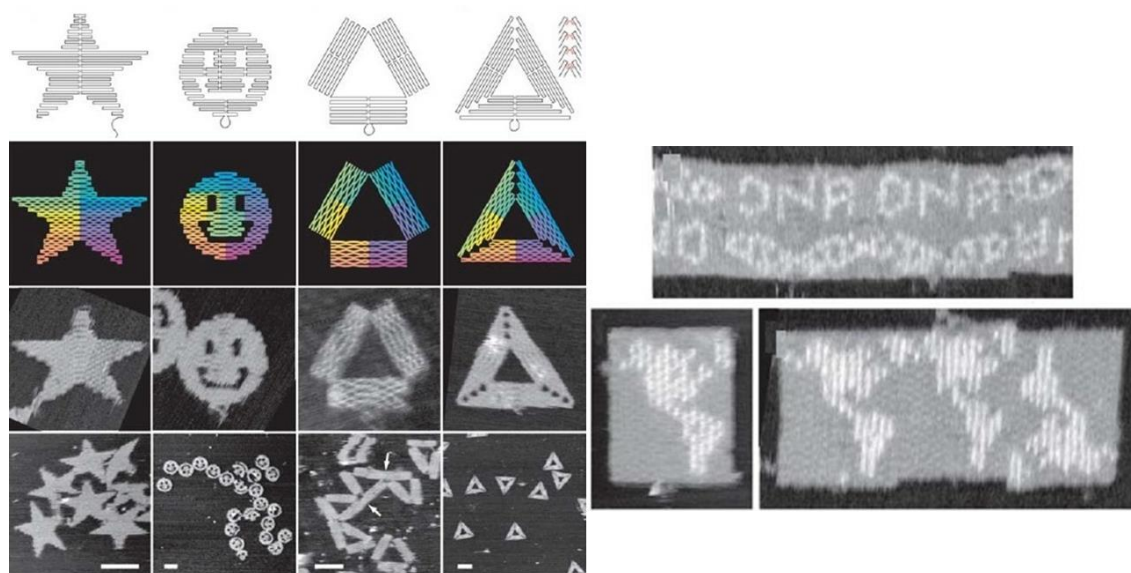


Figura 129 – Exemplos de objetos construídos com a técnica de origami de DNA.²³³

Vários estudos têm vindo a ser desenvolvidos de forma a aproveitar a mais-valia do domínio nanométrico conferido pela técnica de origami de DNA. Por exemplo, nanotubos de DNA resistente são usados como meio para o alinhamento de líquidos-cristalinos para a análise estrutural de proteínas em membrana por RMN.²³⁴ Também estão a ser desenvolvidos origamis de DNA funcionalizados para serem posteriormente utilizados em várias aplicações. Estes podem ser construídos através da interação de pequenos oligonucleótidos que transportam grupos funcionais, tais como grupos que emitem fluorescência ou grupos químicos que servem como intermediários para a ligação direcionada de proteínas, quantum dots e nanopartículas, sendo que diversas estratégias têm sido estudadas para uma ancoragem eficiente.²³⁵⁻²⁴² Esta técnica também tem sido usada como padrão de calibração para microscópios de fluorescência de alta resolução.²⁴³

5.2 Nanotecnologia de DNA para transferência de energia

A organização de moléculas ao longo de uma estrutura formada pela técnica origami de DNA pode ser também utilizada para controlar outros processos físico-químicos. Um dos objetivos é simular processos de conversão de energia foto-catalítica. Atualmente já há publicações sobre a organização de cromóforos e transferência de energia ao longo das estruturas formadas por DNA^{244,245} e também sobre o transporte de carga através do DNA.²⁴⁶ Estes estudos foram recentemente estendidos para nanoestruturas de DNA mais elaboradas, tais como estruturas em 3D. Nos últimos anos a técnica origami de DNA evoluiu e hoje já é possível construir estruturas tridimensionais, dando assim início à montagem de nanoestruturas em forma de caixas e esferas que podem mesmo ser capazes de abrir e fechar.^{247,248} A partir dessa evolução as possibilidades de utilização desta técnica aumentaram bastante, podendo aplicar-se a inúmeras áreas onde a localização precisa de determinadas moléculas é fundamental para ter a função desejada. Associado a essas características como os origamis de DNA são biocompatíveis estão a ser estudados na área médica, nomeadamente no transporte de drogas.²⁴⁹⁻²⁵¹ No entanto, como são biodegradáveis a sua aplicação em áreas tecnológicas vai implicar a vitrificação dos arranjos para que os seus constituintes possam manter as posições originais, ou seja, mesmo que ocorra a degradação do origami as outras estruturas mantêm-se devidamente organizadas.^{252,253} Nanoestruturas de DNA podem assim ser utilizadas como interface entre as entidades moleculares para fornecer as junções necessárias, à escala nanométrica, para unir/posicionar diversas entidades moleculares.

Esta nova abordagem tem inspirado vários grupos na construção de sistemas, por exemplo, de transferência eletrónica (Figura 130).²⁴⁷ Dessa forma estruturas de DNA fornecem uma ferramenta útil para a organização dos componentes fotónicos em dispositivos à escala nano. A forma do conjunto, juntamente com a multiplicidade de dispositivos de componentes fotónicos, permite a construção de “circuitos moleculares fotónicos”.²⁴⁷ Usando este princípio, estas estruturas origamis de DNA podem ser utilizados como “nanocircuitos” para dispositivos fotónicos.

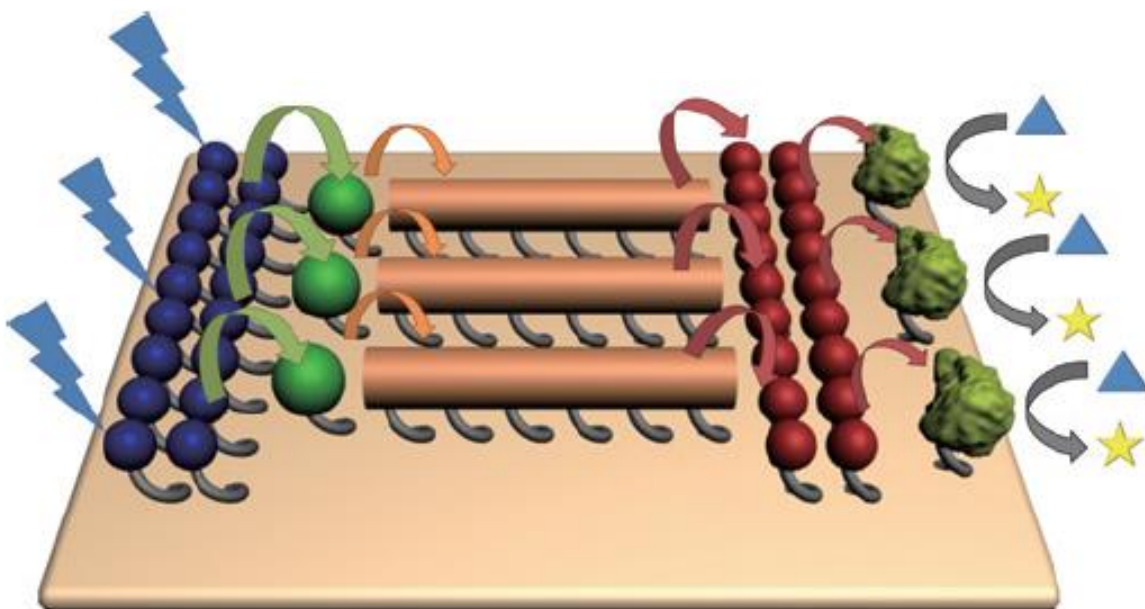


Figura 130 – Esquema de um origami de DNA para fenômenos de transferência de energia e de carga.²⁴⁷

5.3 Díades porfirina-C₆₀

A capacidade natural que as plantas possuem de transformar luz solar em energia química, tem despertado o interesse da comunidade científica nos últimos anos, levando os investigadores a desenvolverem métodos biomiméticos capazes de simular a separação de carga que ocorre na fotossíntese.²⁵⁴ Compostos com a capacidade de serem doadores/recetores de energia, servem como modelos artificiais em reações fotossintéticas. Clorofilas, uma forma reduzida das porfirinas, são um dos exemplos desses compostos que são doadores de elétrons e energia em processos naturais como a fotossíntese.^{247,255} A fotossíntese permite através de fenômenos de transferência de energia e separação de carga, envolvendo um cromóforo (clorofila), capaz de absorver a luz solar, e um conjunto de outras moléculas, converter a luz solar em energia química. A fotossíntese e a respiração são mesmo os processos bioquímicos mais importantes onde estão envolvidas clorofilas e porfirinas, respetivamente.

A capacidade das porfirinas serem um ótimo dador de elétrons deve-se ao seu sistema π altamente conjugado, tornando-as adequadas para serem dadores em modelos fotossintéticos artificiais. Os estados singlete e tripleto das porfirinas são adequados para interagir com outras moléculas em estados excitados ou fundamentais.

Já os fulerenos são compostos de forma esférica que constituem uma vasta família de moléculas aromáticas, simétricas, compostas por dezenas de átomos de carbono com

hibridização sp^2 .²⁵⁶ A estrutura mais estável dos fulerenos é a constituída por 60 átomos de carbono, denominada por C₆₀ ou [60]fulereno.²⁵⁶ O C₆₀ é um poliedro com 12 faces pentagonais e 20 hexagonais (Figura 131), onde cada átomo de carbono da estrutura do C₆₀ é idêntico aos restantes e a conjugação prolonga-se ao longo da superfície.²⁵⁶ Estes compostos têm cativado bastante atenção da comunidade científica devido à sua estrutura 3D e também devido à sua capacidade de acomodar facilmente eletrões.

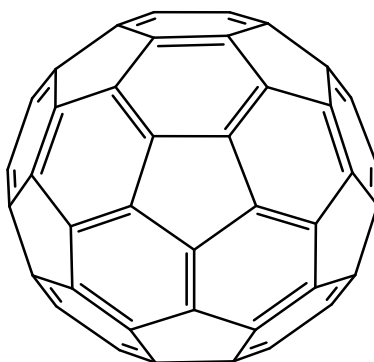


Figura 131 – Estrutura do C₆₀.

A simetria do C₆₀, em conjunto com as suas propriedades únicas, permite a sua utilização como recetor de eletrões em sistemas dador/recetor artificiais. Sistemas desses, baseados em porfirinas e afins, têm sido reportados na literatura com bastante sucesso, onde se tem estudado a transferência de eletrões e/ou energia.²⁵⁷⁻²⁶⁵ Sistemas porfirina-C₆₀ ligados covalentemente têm obtido excelentes resultados, diferindo muito pouco do que acontece nos sistemas naturais. Devido às porfirinas apresentarem a capacidade de transferir eletrões e o C₆₀ de os receber, díades porfirina-C₆₀ têm sido sintetizadas, estudadas e aplicadas em várias áreas de transferência eletrónica, tais como células solares orgânicas.

O grupo de Química Orgânica da Universidade de Aveiro, em colaboração com outros laboratórios também, tem vindo a desenvolver díades porfirina-C₆₀ como a representada na Figura 132.²⁶⁵ Foi demonstrado que em sistemas destes ocorre transferência de energia e transferência de eletrões num curtíssimo espaço de tempo.

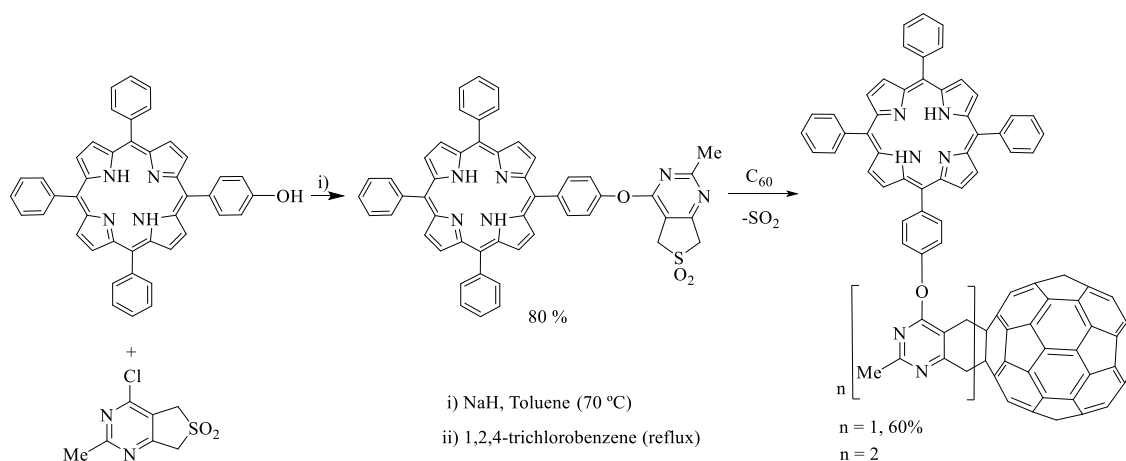


Figura 132 – Estrutura de uma díade porfirina-C₆₀.²⁶⁵

Consequentemente, o estudo da interação não covalente entre os sistemas dador/recetor tem mostrado resultados muito mais promissores para simular sistemas naturais. Para se obter estas interações não covalentes, tem-se otimizado a estrutura de díades supramoleculares. A arquitetura e o arranjo supramolecular pode ser controlado por interações electrostáticas, pontes de hidrogénio, interação π - π e complexação metal-ligando. Por isso, o arranjo supramolecular de sistemas dador/recetor é considerado um possível substituto para díades de ligação covalente, por permitir um aumento do processo de separação de carga e consequentemente um prolongamento do tempo de vida do estado da carga em transição.

Por exemplo, Sessler e colaboradores funcionalizaram porfirinas e C₆₀ com grupos possíveis de efetuar interações por pontes de hidrogénio para estudarem a transferência eletrónica fotoinduzida entre a porfirina e o [60]fulereno (Figura 133).²⁶⁶

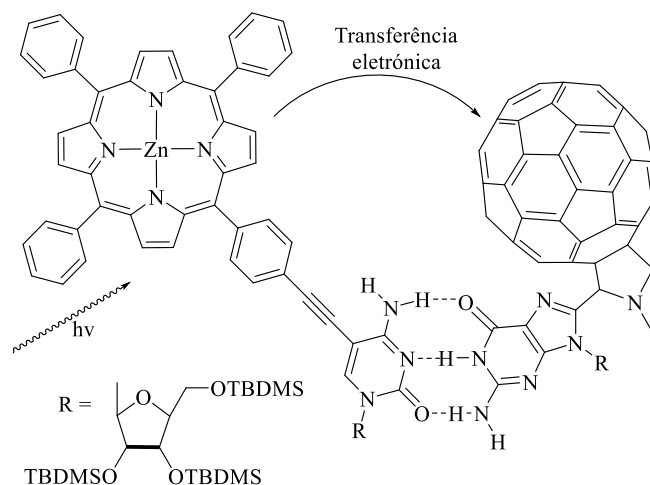


Figura 133 – Díade porfirina-C₆₀ formado por interação de pontes de hidrogénio.

O outro exemplo consiste num sistema composto por um [60]fulereno funcionalizado com um grupo que coordena axialmente com o metal da porfirina através do átomo de azoto da piridina (Figura 134).²⁶⁷

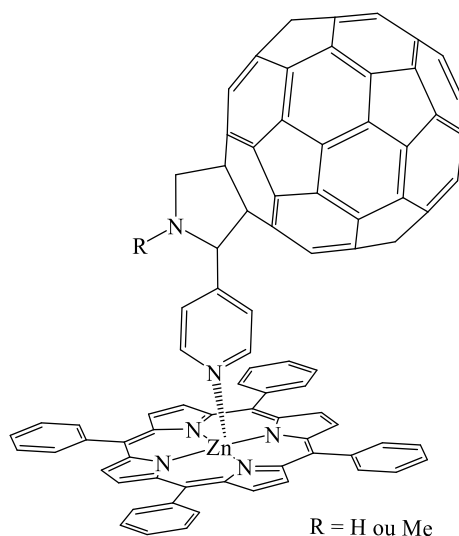


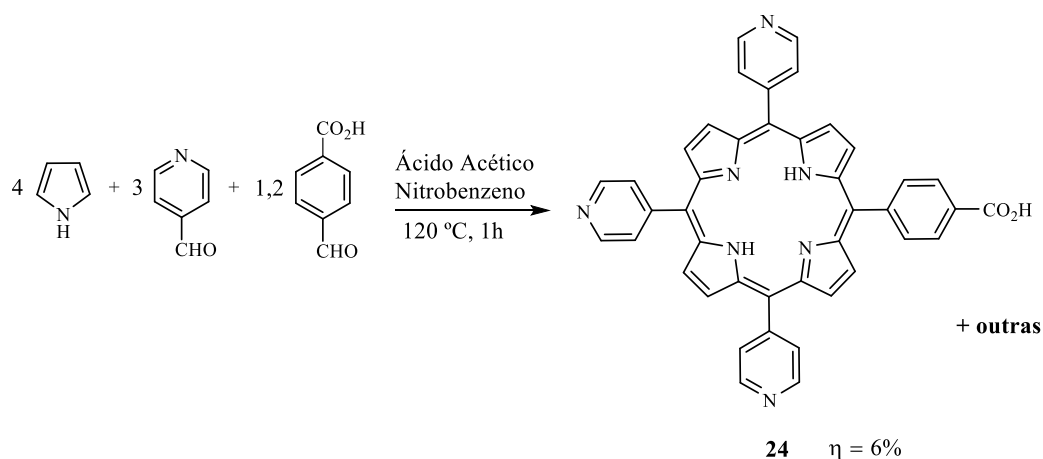
Figura 134 – Díade porfirina- C_{60} formada por ligação não covalente.

A projeção e construção de componentes multifotônicos tem sido desenvolvida nos últimos anos controlando a distância entre os componentes, a orientação e os rácios de dador/recetor de forma a poderem ser aplicados em transferência de energia. Os resultados obtidos através destes rigorosos estudos têm-se revelado muito promissores. O trabalho descrito neste capítulo tem como objetivo descrever o desenvolvimento de DNA origamis com componentes fotónicos constituídos por porfirinas e C_{60} . Este trabalho foi efetuado em colaboração com o “*Institute of Advanced Energy*” da Universidade de Quioto, sob orientação do Professor Takashi Morii.

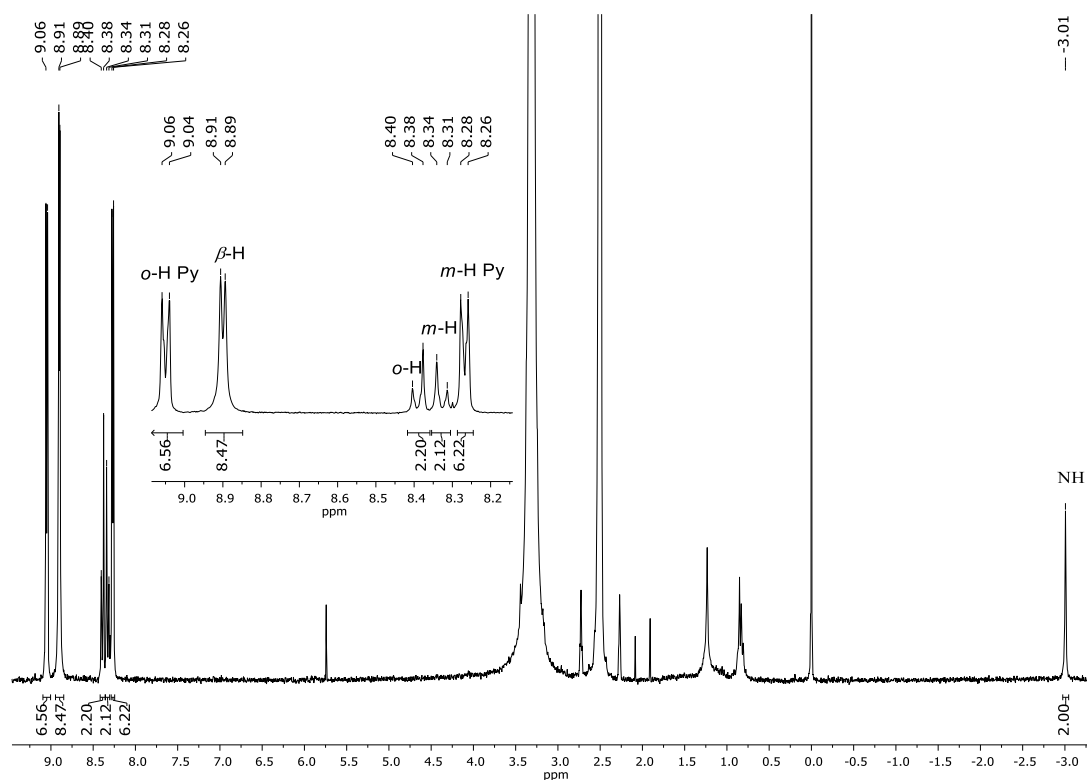
5.4 Síntese dos precursores porfirinas e C_{60}

Numa primeira fase do trabalho procedeu-se à síntese dos precursores porfirínicos e dos [60]fulerenos funcionalizados. Sintetizou-se assim a porfirina assimétrica **24** (Esquema 39) que possui três grupos piridilo e um grupo fenilo com um grupo ácido carboxílico, que foi preparada por condensação de pirrol com piridina-4-carbaldeído e 4-carboxibenzaldeído, usando as condições reportadas por Gonsalves e colaboradores.¹¹⁴ A condensação foi levada a cabo numa mistura de ácido acético glacial/nitrobenzeno a refluxo. Ao fim de cerca de uma hora a reação considerou-se terminada, procedendo-se de seguida à destilação, a pressão

reduzida, da mistura dos solventes até à secura. O resíduo foi sujeito a cromatografia de coluna tendo-se obtido uma primeira fração que foi identificada como sendo a 5,10,15,20-tetraquis(4-piridil)porfirina. A segunda fração foi identificada como sendo a de 5-(4-carboxifenil)-10,15,20-tris(4-piridil)porfirina **24** tendo sido obtida com um rendimento de 6%. Os dados espectroscópicos de RMN ¹H e EM confirmam ser esta a porfirina obtida. (Figura 135).

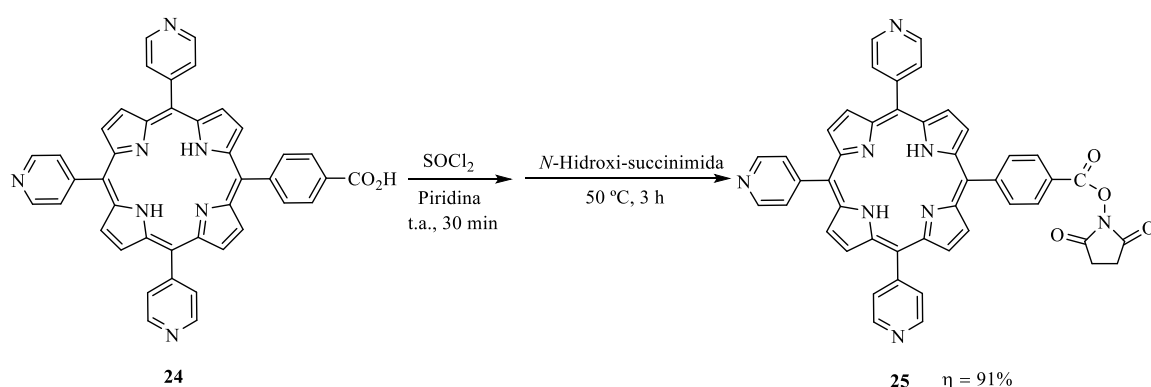


Esquema 39


 Figura 135 – Espetro de RMN de ¹H do composto **24** em DMSO-*d*₆.

A δ -3,01 ppm existe um singuleto correspondente à ressonância dos prótons internos NH. Na zona aromática, destacamos um duplete ($J= 5,8$ Hz) a δ 8,27 ppm correspondente à ressonância dos prótons *orto* dos grupos piridilo. A ressonância dos prótons *orto* e *meta* do grupo 5-arilo surgem sob a forma de um duplete ($J= 7,8$ Hz), respetivamente a δ 8,33 e 8,39 ppm. A δ 8,90 ppm observa-se um duplete referente à ressonância dos prótons β -pirrólicos ($J= 3,6$ Hz) e a δ 9,02 ppm existe um duplete ($J= 5,8$ Hz) correspondente à ressonância dos prótons *meta* dos grupos piridilo. A estrutura do composto foi ainda confirmada por espectroscopia de massa, onde o espetro apresenta um pico com razão m/z de 662,2 correspondente ao ião molecular $[M+H]^+$.

Uma vez que o objetivo é ligar covalentemente a porfirina **24** a terminais amino de oligonucleotídeos, o processo de acoplamento a esses terminais foi efetuado com a ativação do grupo ácido com *N*-hidroxi-succinimida via formação prévia do derivado cloreto de ácido (Esquema 40).



Para tal, fez-se reagir a porfirina **24** com SOCl₂ em piridina seca tendo-se verificado por TLC, após 30 minutos de reação à temperatura ambiente, a conversão total da porfirina de partida no cloreto de acilo correspondente. Findo este período, adicionou-se a *N*-hidroxi-succinimida e colocou-se a mistura reacional sob agitação a 50 °C. Ao fim de 3 horas observou-se, por TLC, a formação de um composto novo de cor rosa. Após arrefecimento, o solvente foi evaporado a pressão reduzida e a mistura reacional, após retomada em diclorometano, foi lavada com uma solução básica saturada de hidrogenocarbonato de sódio, extraída com diclorometano e seca através de sulfato de sódio anidro. De seguida o produto foi cristalizado em diclorometano/hexano originando cristais vermelho escuros correspondendo à porfirina **25**.

Para o composto **25** o espectro de massa apresenta o íon molecular m/z 759,2 correspondente a $[M+H]^+$. No espectro de RMN de 1H (Figura 136) encontramos um singuleto largo a δ 3,01 ppm correspondente à ressonância dos quatro prótons do grupo imida. A zona aromática do espectro deste composto é análoga à da porfirina **24**. A δ 8,28 ppm observa-se um duplo duplete ($J= 4,7$ e 1.9 Hz) correspondente à ressonância de 6 prótons *orto* dos grupos piridilo. A ressonância dos prótons *orto* e *meta* do grupo 5-arilo surgem sob a forma de um duplete ($J= 8,5$ Hz) a δ 8,50 e 8,55 ppm, respetivamente. A δ 8,86 – 9.00 ppm existe um sinal em forma de multipletto referente à ressonância dos prótons β -pirrólicos e finalmente a δ 9,06 ppm observa-se um duplo duplete ($J= 4,7$ e 1.9 Hz) correspondente à ressonância dos 6 prótons *meta* dos grupos piridilo.

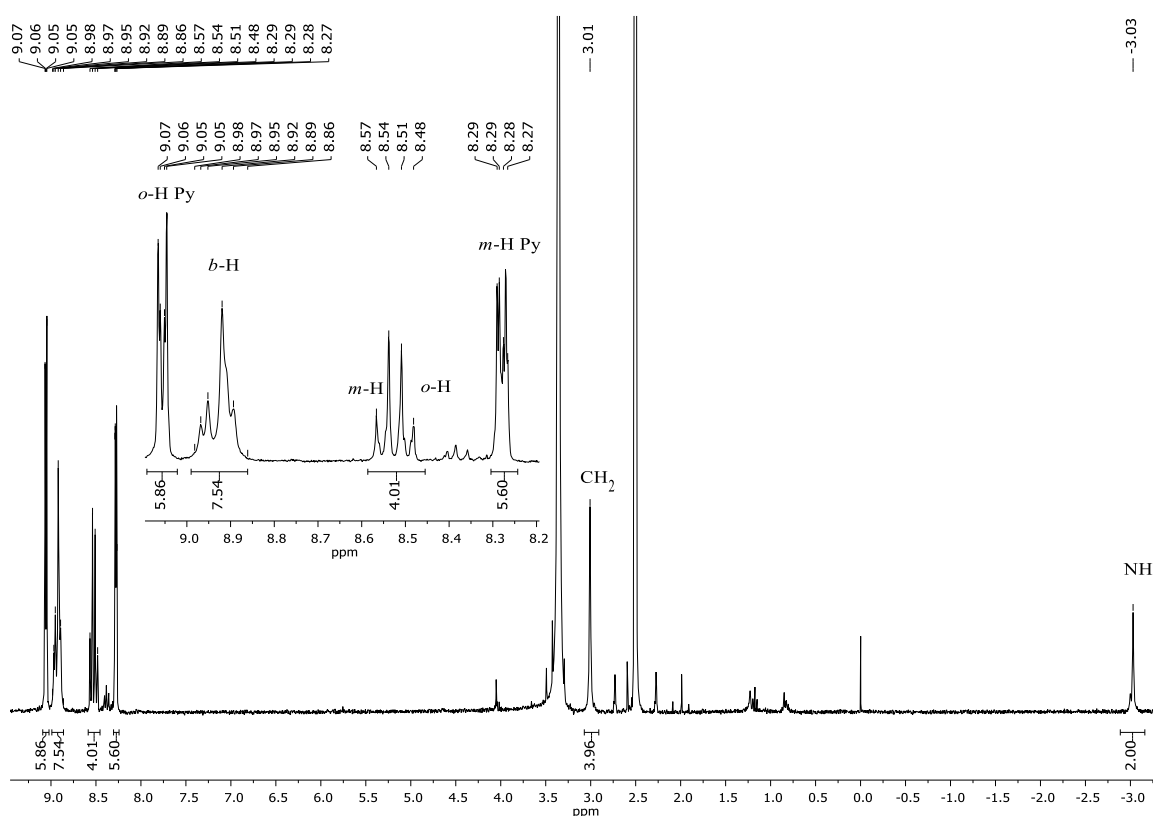


Figura 136 – Espectro de RMN de 1H do composto **25** em DMSO- d_6 .

Sintetizadas as porfirinas a usar, procedeu-se à síntese dos precursores C₆₀ éster ativados. A primeira estratégia neste sentido foi a tentativa de acoplar o ácido 4-formilbenzoico ao C₆₀ com a *N*-metil glicina através de reações de cicloadição 1,3-dipolar (Esquema 41).



manchas, a do C₆₀ não reagido e do [60]fulereno funcionalizado, respetivamente. Adicionou-se assim a *N*-hidroxi-succinimida e colocou-se a mistura reacional sob agitação a 50 °C. Ao fim de 3 horas observou-se, por TLC, a formação de um composto novo e o desaparecimento da correspondente mancha anterior. Após arrefecimento, os solventes foram evaporados a pressão reduzida e a mistura reacional, após ser retomada em diclorometano foi lavada com uma solução de hidrogenocarbonato de sódio saturada, extraída com uma mistura de diclorometano e seca em sulfato de sódio anidro. De seguida, procedeu-se à purificação da mistura reacional por cromatografia em coluna de sílica gel usando uma mistura tolueno/éter petróleo (1:1) para retirar a primeira fração, o C₆₀ não reagido, e tolueno para retirar a segunda fração que se verificou ser o composto **27**. Os dados espectroscópicos de RMN ¹H e EM confirmam ser este o composto obtido. O espectro de RMN de ¹H foi feito em CS₂ devido à baixa solubilidade do produto em vários solventes deuterados (Figura 137).

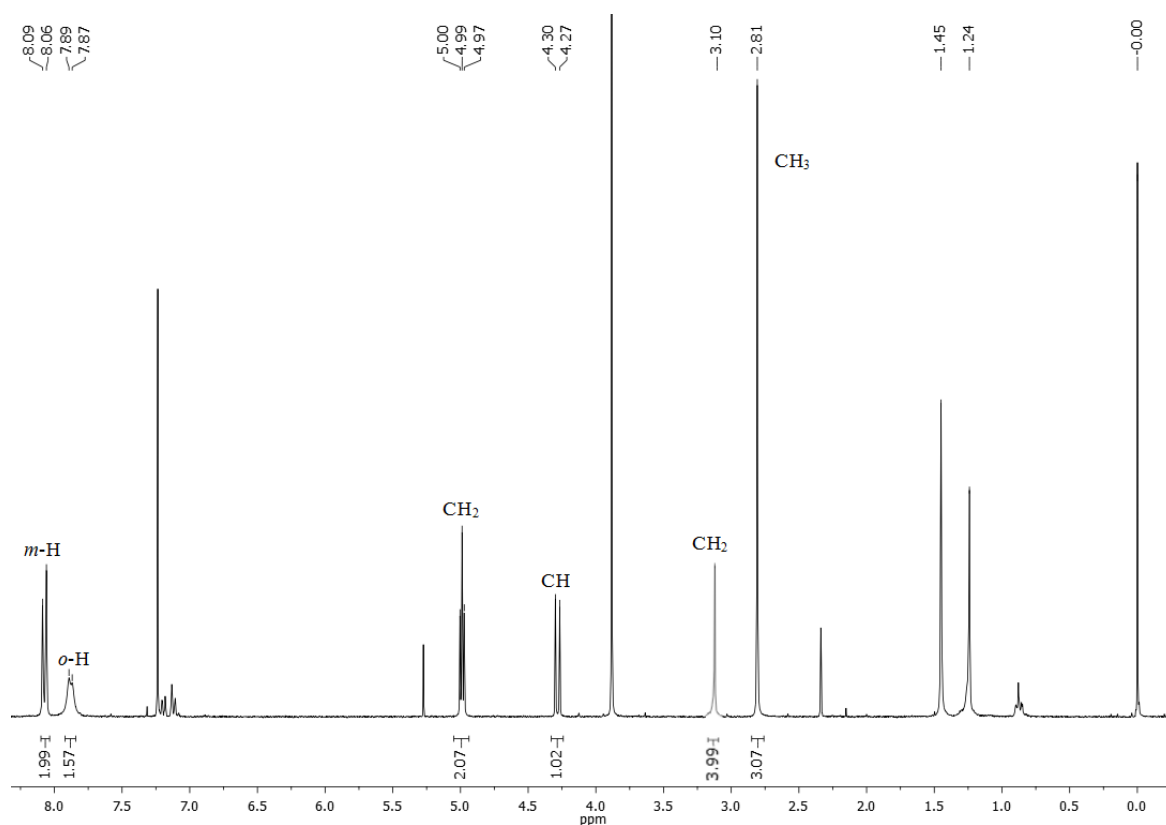


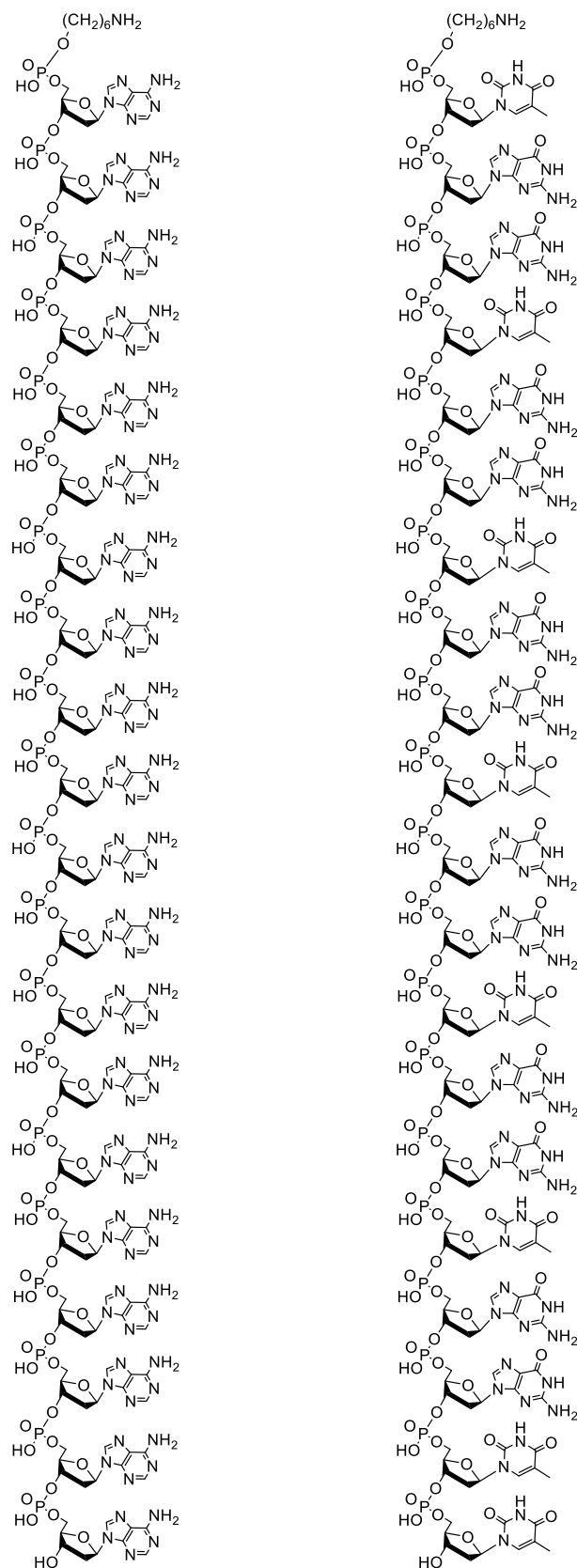
Figura 137 – Espectro de RMN de ¹H do composto **27** em CS₂/CDCl₃.

Para o composto **27** o espectro de massa apresenta o ião molecular *m/z* 995,47 correspondente a [M+H]⁺. No espectro de RMN de ¹H podem ver-se dois singletos, um a δ 2,81 ppm

correspondente à ressonância dos três prótons CH₃ e um a δ 3,10 ppm correspondente à ressonância dos 4 prótons do grupo imida. A δ 4,28 ppm observa-se um duplete ($J= 9,5$ Hz) correspondente à ressonância de 1 próton CH. A δ 4,97-5,00 ppm existe um sinal em forma de multiplete referente à ressonância dos prótons CH₂. Na zona aromática do espectro de RMN de ¹H, temos dois sinais referentes à ressonância dos prótons *orto* e *meta* do grupo arilo que surgem sob a forma de um duplete ($J= 8,6$ Hz) a δ 7,88 e 8,07 ppm, respetivamente.

5.5 Conjugados oligonucleotídeos de porfirina e C₆₀

Sintetizados e caracterizados os ésteres ativados da porfirina e do C₆₀, o passo seguinte foi acoplar estes precursores aos oligonucleotídeos. As condições experimentais e métodos de síntese usados foram desenvolvidos e estudados pelo Doutor João Tomé aquando da sua estadia no grupo de investigação de Quioto. Para a realização deste trabalho usaram-se dois oligonucleotídeos (OligoDNA) diferentes, no entanto ambos com grupos terminais amina (Figura 138). Um constituído por 20 bases unitárias de adenina (OligoA₂₀) e outra cadeia constituído por 6 cadeias de bases unitárias guanina, guanina e timina (Oligo(GGT)₆TT) como representado na Figura 138.



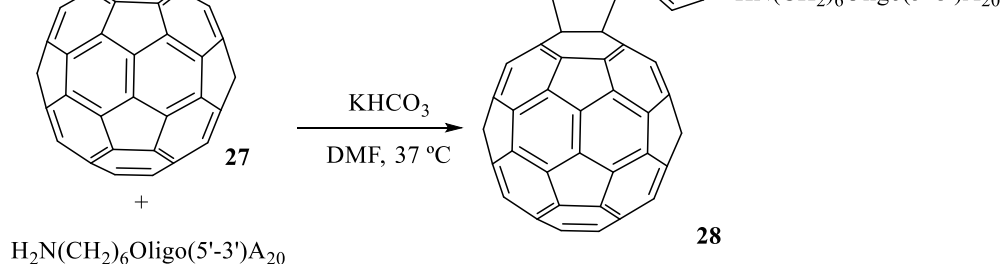
$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_6\text{Oligo}(5'-3')\text{A}_{20}$

$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_6\text{Oligo}(5'-3')(\text{GGT})_6\text{TT}$

Figura 138 – Oligonucleotídeos com grupos terminais amina.

Assim, numa primeira tentativa fez-se reagir o [60]fulereno funcionalizado **27** (1 mg, ≈ 1100 equiv.) com 30 nmoles de Oligo-A₂₀ (50 μ L), na presença de 15 mg de KHCO₃, em 500 μ L de DMF. A reação foi deixada numa incubadora a 37 °C durante a noite (Esquema 43).

Chemical structures of compounds 1 and 2 are shown. Compound 1 is a pyrrole derivative with a methyl group on the nitrogen and a 4-(2-oxo-2-oxolanoxy)benzyl group at the 2-position. Compound 2 is a pyrrole derivative with a dimethylaminomethyl group at the 2-position and a 4-(2-oxo-2-oxolanoxy)benzyl group at the 3-position.



Para seguir a reação e purificar o composto **28** foi usado uma coluna de fase reversa C₄ e um gradiente dos solventes A e B com o programa apresentado na Tabela 6. Na Figura 139 estão representados os cromatogramas de HPLC da purificação do composto **28** a 260 e 310 nm.

Tabela 6 – Condições usadas no HPLC para purificação do composto **28** numa coluna C₄.

Tempo (min)	Linha A Solução tampão de formato de amônio (50 µM, pH= 7,2)	Linha B Acetonitrilo/Solução tampão (80/20)	mL/min
0	95	5	1
5	95	5	1
50	5	95	1
51	0	100	1
55	0	100	1
60	95	5	1

O Oligo-A₂₀ apresenta uma banda de absorção intensa a 260 nm enquanto que o C₆₀ tem uma banda a 310 nm que podem ser detetada por UV-Vis. Pela análise do cromatograma a 260 nm a 20 minutos de retenção surge o Oligo-A₂₀ que não reagiu e a 37 minutos já se verificava uma banda menos intensa correspondente ao composto **28**. No cromatograma a 310 nm podemos confirmar assim que existe uma banda, ainda que pequena, a 37 minutos indicando a presença do conjugado C₆₀-OligoDNA **28**. Este composto foi também caracterizado por MS-MALDI usando uma matriz de ácido 3-hidroxipicolínico (3-HPA), apresentando o ião molecular m/z 7289,84 correspondente a $[M+Na]^+$ (Figura 140).

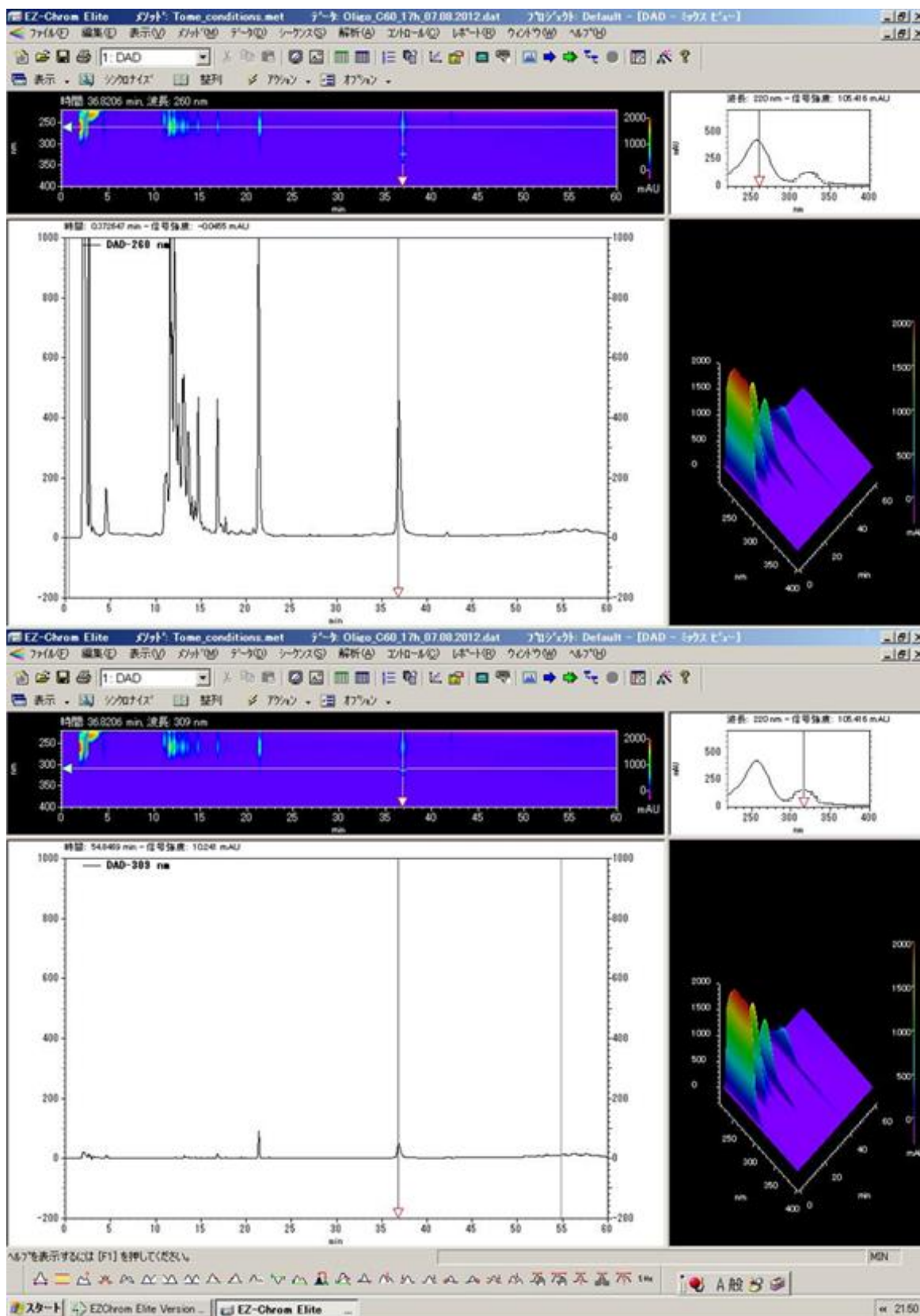


Figura 139 – Cromatogramas do oligo-conjugado **28** a 260 e 310 nm, respectivamente em cima e em baixo.

Data: Oligo-C60-37primeiro-121power0001.D4[c] 8 Aug 2012 0:21 Cal: SakaguchiLab_111108 5 Aug 2012 17:55
Shimadzu Biotech Axima LNR 2.7.1.20060929: Mode Linear, Power: 120, P.Ext. @ 7250 (bin 131)

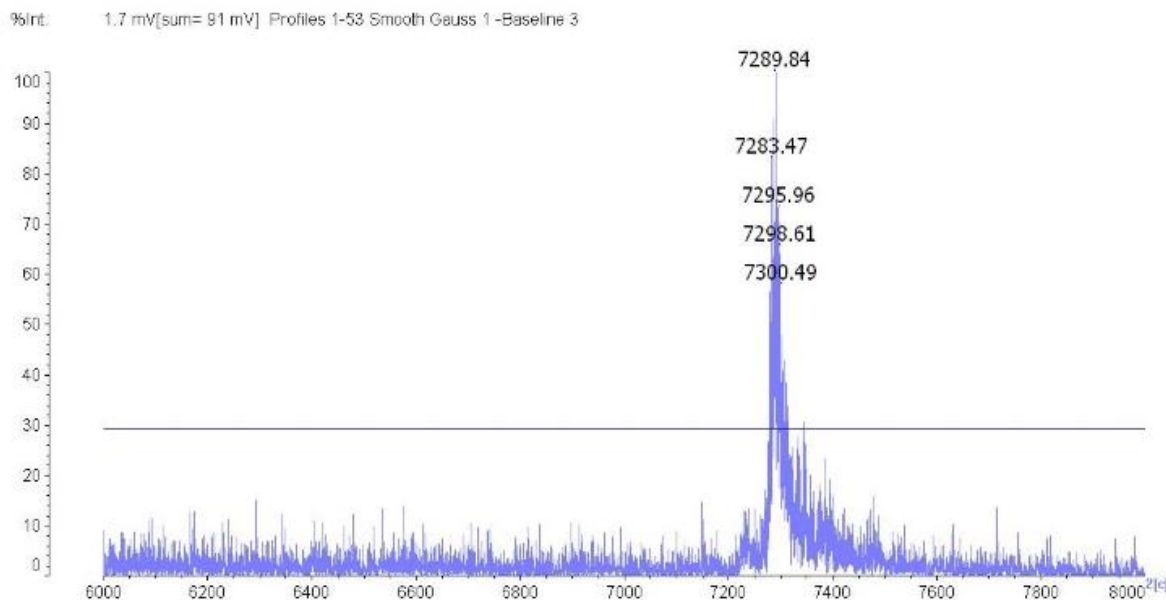
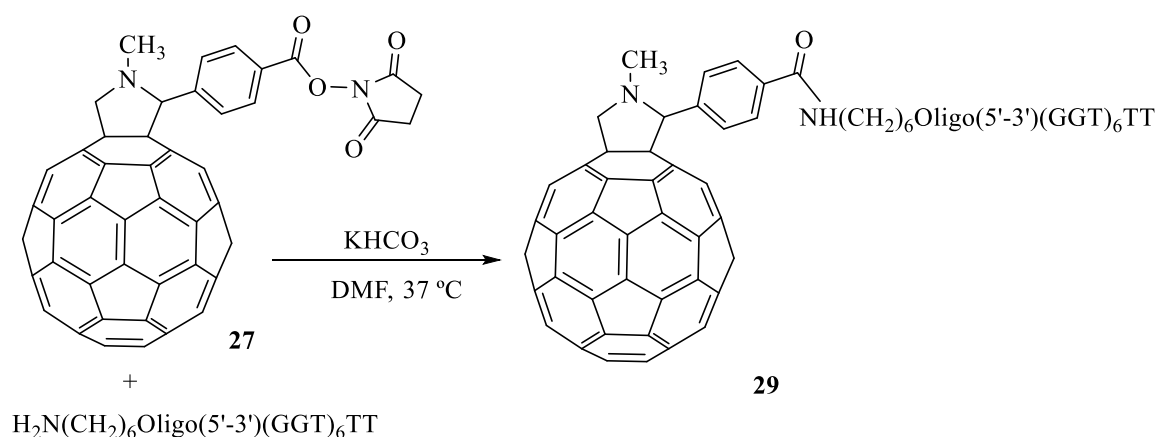


Figura 140 – Espetro de MS-MALDI do composto **28**.

Após a preparação do primeiro C₆₀-Oligo-A₂₀, fez-se a mesma abordagem mas agora para o outro oligonucleotídeo, o Oligo-(GGT)₆TT. Assim, num pequeno *ependorf* adicionou-se 1 mg de [60]fulereno (≈ 1100 equiv.) funcionalizado, 30 nanomoles de Oligo-(GGT)₆TT (50 μ L) e 15 mg de KHCO₃ a 500 μ L de DMF e deixou-se reagir durante 24 horas numa incubadora a 37 °C (Esquema 44).



Esquema 44

As condições para terminar a reação, preparar a amostra para analisar e purificar, assim como as condições de HPLC, foram em tudo semelhantes às descritas anteriormente.

Na Figura 141 estão representados os cromatogramas, com os respectivos espectros de UV do novo C₆₀-OligoDNA **29** a 240 e 320 nm.

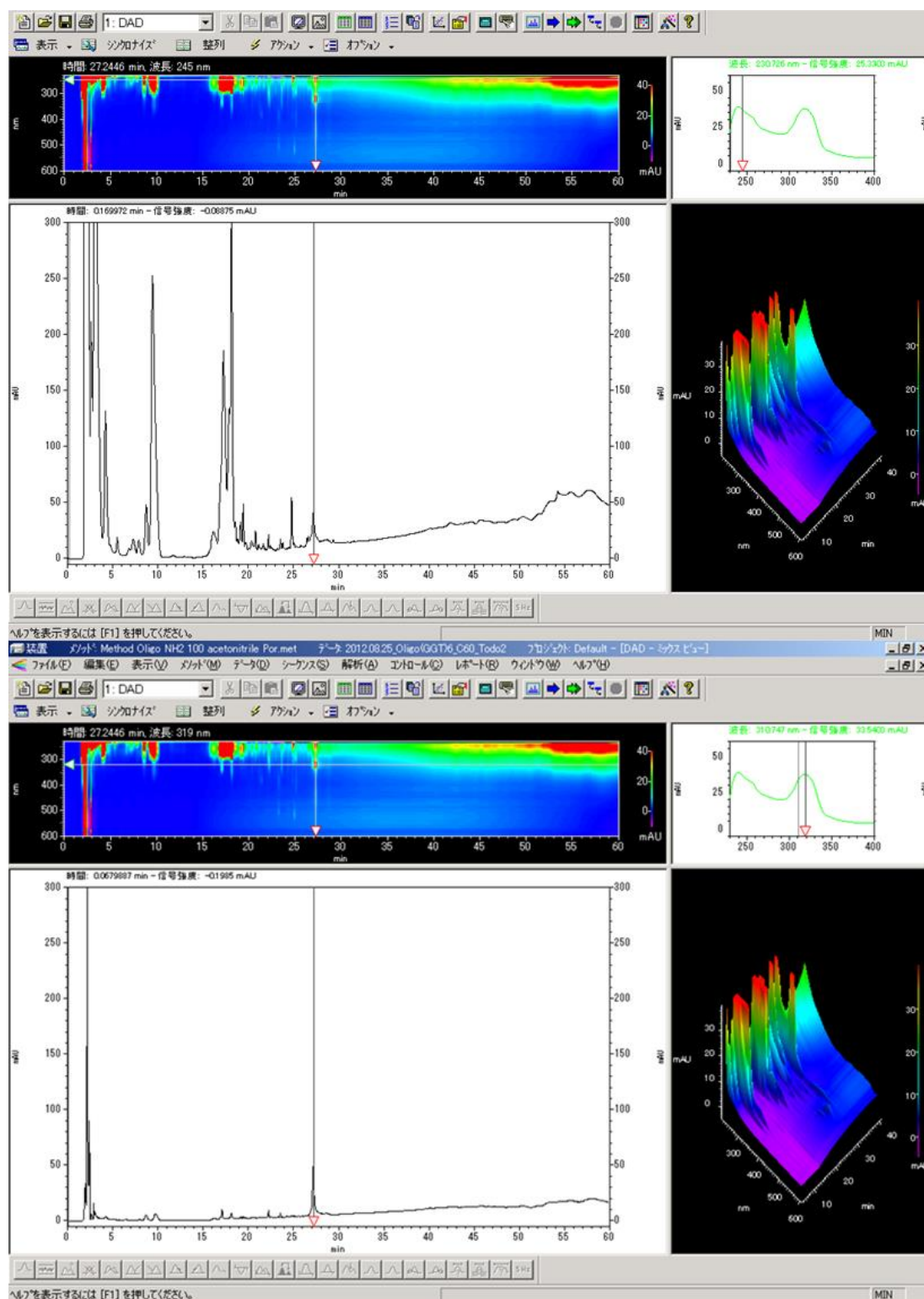


Figura 141 – Cromatogramas do conjugado **29** a 240 e 320 nm, respectivamente em cima e em baixo.

Neste caso, pela análise do cromatograma a 240 nm, a 18 minutos de retenção detetou-se o Oligo-(GGT)₆TT que não reagiu e a 27 minutos já se verifica uma banda menos intensa correspondente ao composto **29**. No cromatograma a 320 nm podemos confirmar que nessa banda coexiste C₆₀, indicando a presença do conjugado **29**. Este composto foi também caracterizado por MS-Maldi usando a matriz 3-HPA, apresentando o ião molecular m/z 7446,18 (Figura 142).

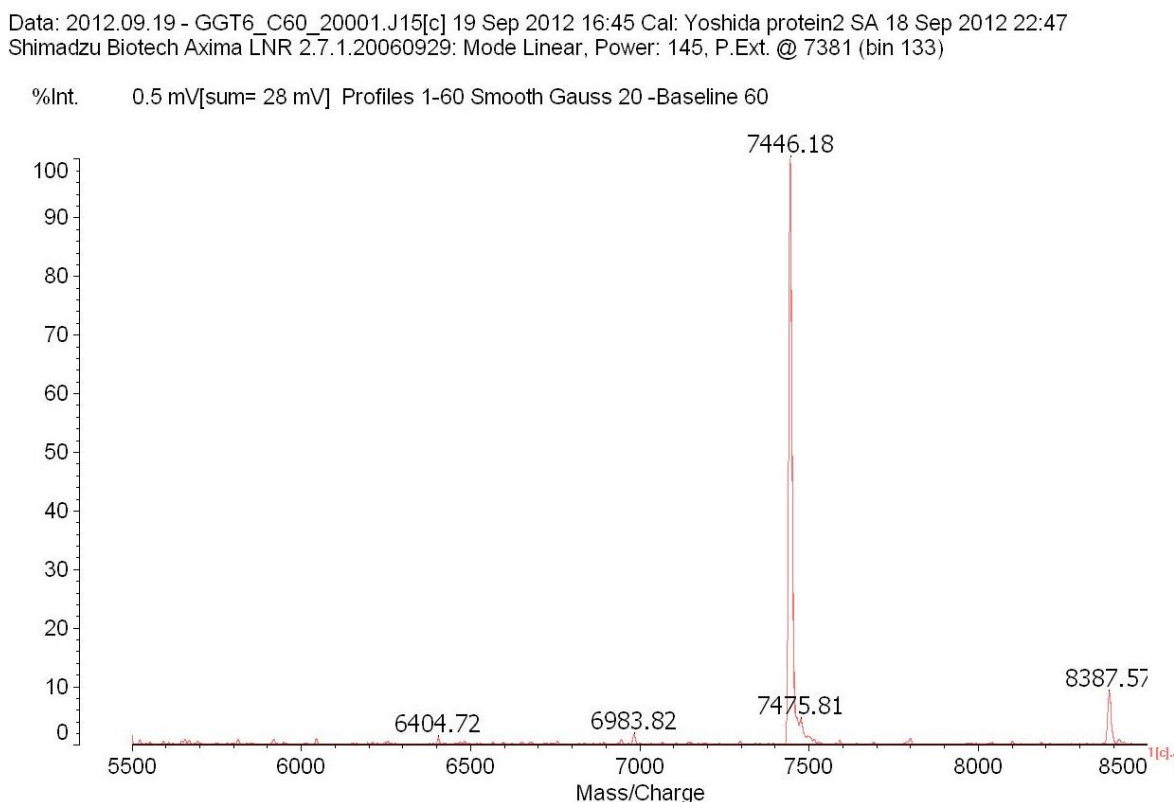
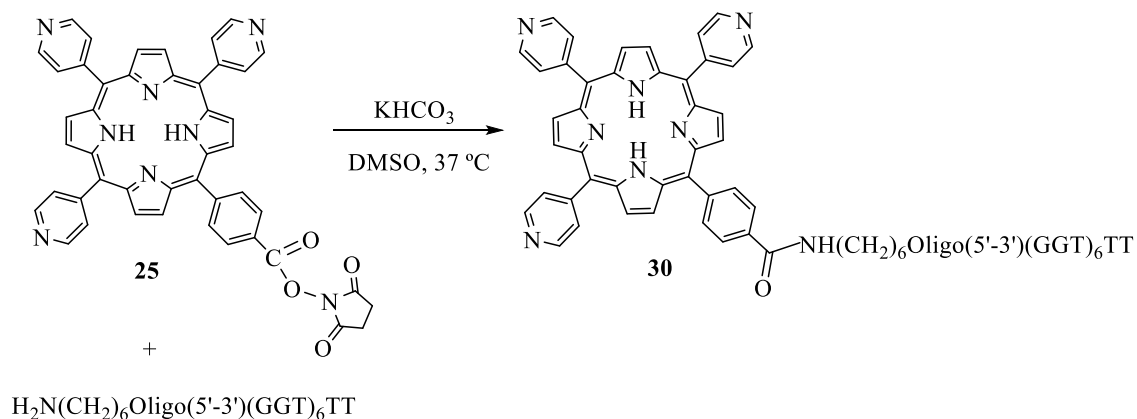


Figura 142 – Espectro de MS-MALDI do composto **29**.

Tendo-se obtido os C₆₀-Oligos pretendidos, procedeu-se a preparação dos respetivos conjugados da porfirina **25**. Num *ependorf* adicionou-se então 1 mg da porfirina **25** (1000 equiv.), 30 nmol de Oligo-(GGT)₆TT e 15 mg de KHCO₃. Neste caso, em vez de DMF, usou-se DMSO (500 µL) como solvente e deixou-se reagir durante a noite numa incubadora a 37 °C (Esquema 45). Também neste caso, a quantidade de porfirina em relação à de OligoDNA foi bastante elevada para assim favorecer a reação de acoplamento.



Esquema 45

O procedimento para terminar a reação foi semelhante ao descrito anteriormente para o C₆₀-Oligo. Adicionou-se água destilada para precipitar a porfirina em excesso e centrifugou-se. Efetuou-se este passo mais duas vezes. À fase aquosa adicionou-se diclorometano para lavar/remover alguma porfirina que não tivesse precipitado. A fase aquosa foi então concentrada na centrífuga SpeedVac a 50 °C. De seguida procedeu-se à purificação do conjugado **30** por HPLC, usando o mesmo sistema cromatográfico que vínhamos a usar com os conjugados de C₆₀ (coluna C₄ e a mesma mistura e programa de eluentes). Pela análise do cromatograma a 260 e 420 nm o pico a 26 minutos corresponde ao conjugado **30** porfirina-Oligo-(GGT)₆TT. No cromatograma a 420 nm obtemos assim 3 picos, este a 26 minutos, um outro a 31 minutos correspondente à porfirina **24**, contendo um grupo ácido carboxílico, e finalmente a 34 minutos a porfirina **25** que não reagiu (Figura 143). Estes resultados foram confirmados por MS-MALDI.

Após a síntese de todos os conjugados porfirina e C₆₀ OligoDNA a etapa seguinte foi realizar o estudo de interação destes conjugados com o DNA origami preparado para o efeito.

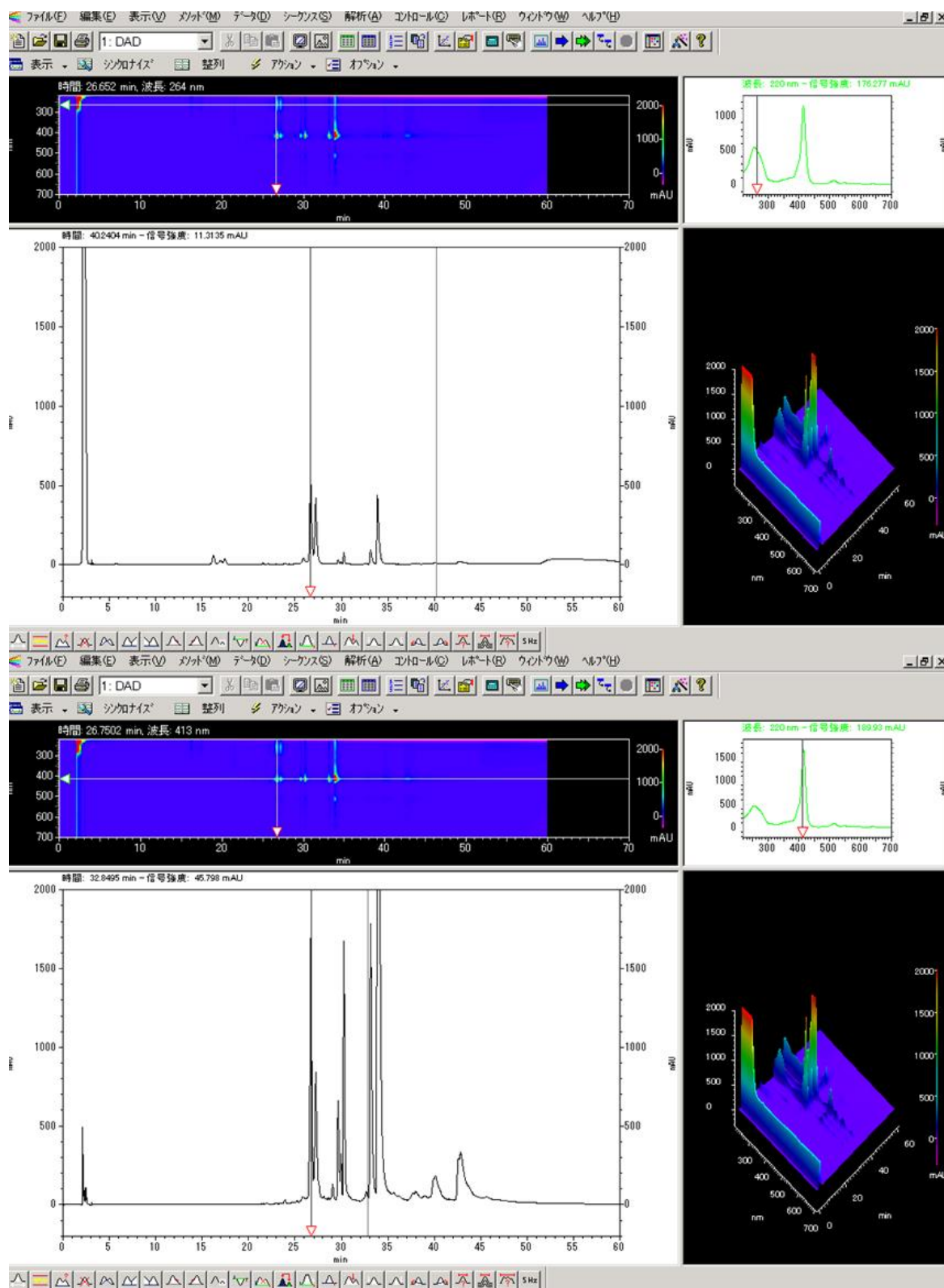


Figura 143 – Cromatogramas do conjugado **30** a 260 e 420 nm, respetivamente em cima e em baixo.

5.6 Novos derivados Porfirina-C₆₀-DNA origami^{††}

Numa primeira fase deste trabalho foi projetado um origami de DNA que era constituído por 3 cavidades, cada cavidade com dez locais de ligação denominadas por T₂₀, para se poder ligar supramolecularmente o primeiro conjugado sintetizado que foi a porfirina-Oligo-A₂₀ (Figura 144). Este conjugado foi sintetizado pelo Doutor João Tomé.

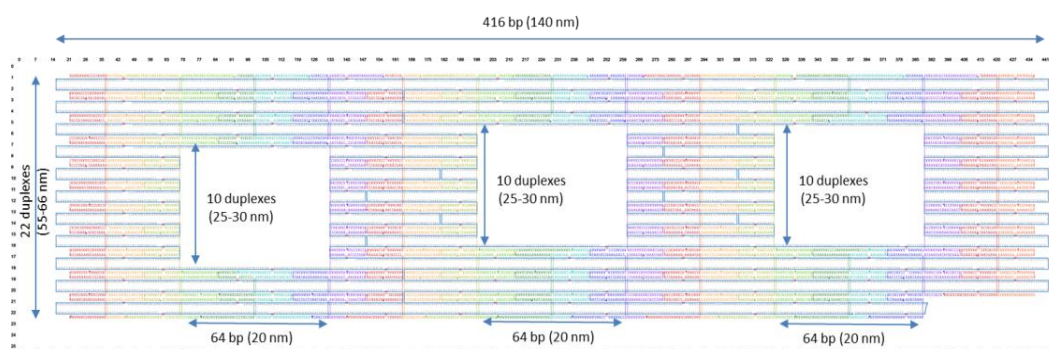


Figura 144 – Origami de DNA proposto com terminais T₂₀

Assim, foi construído o origami de DNA sem a adição do conjugado porfirina-Oligo-A₂₀, que serviu como referência (branco), e por imagem AFM foi feita a caracterização estrutural (Figura 145) onde se pode verificar que as cavidades estão todas “vazias”. De seguida foi adicionado o conjugado porfirina-Oligo-A₂₀ e nova caracterização foi efetuada onde se pode verificar, por AFM, que algumas cavidades foram preenchidas eficazmente (Figura 145).

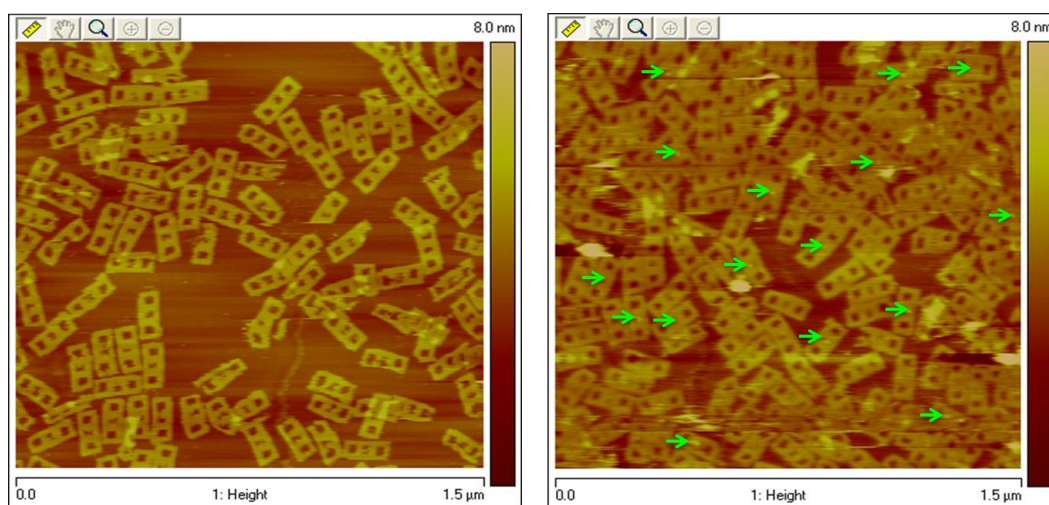


Figura 145 – Origami de DNA (branco) e origami de DNA conjugado com a porfirina-Oligo-A₂₀, à esquerda e à direita, respetivamente.

^{††} Estes dados foram gentilmente cedidos pelos Doutores Ngo Tien, Eiji Nakata e Takashi Morii da Universidade de Quioto.

Após os bons resultados obtidos com o primeiro origami de DNA, foi projetado um segundo origami de DNA onde se pode escolher a distância e os raios dos conjugados porfirina-Oligo e C₆₀-Oligo de uma maneira simples e com localização específica (Figura 146). Neste modelo é possível escolher a disposição dos Oligo conjugados em três posições, mas apenas dois poderão apresentar resultados mais estáveis: a disposição acima do plano do DNA origami (aproximadamente 90°), com uma distância de 6,8 nm a partir do plano (distância mínima para ser detetável por AFM) e outra disposição junto ao plano superior, mas esta não é detetável por AFM. O efeito da localização dos nossos nanocomponentes (distância, ligação e orientação) podem ser confirmados através da determinação de eficiência de extinção da fluorescência do dador, que neste caso é o conjugado porfirina-oligo.

DNA origami proposto

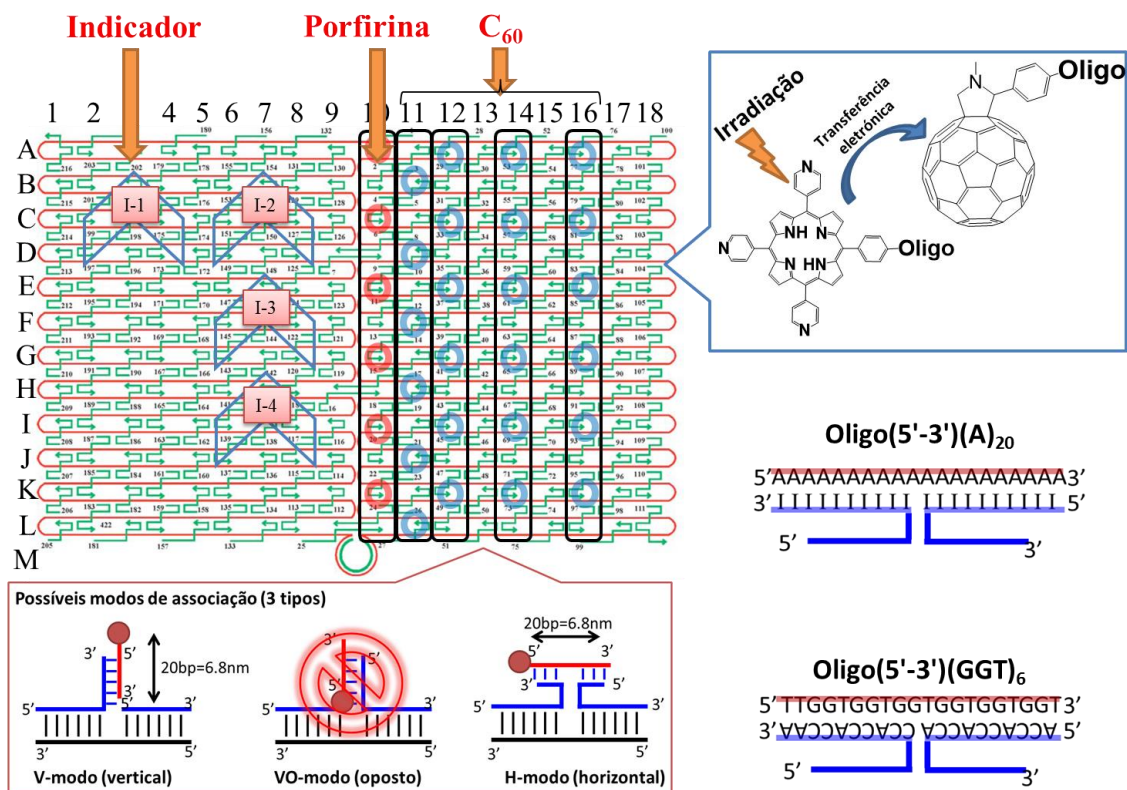


Figura 146 – Projeção do DNA origami.

Os resultados da caracterização estrutural obtidos por AFM comprovam a estabilidade dos primeiros sistemas obtidos (Figura 147). Como representado na figura,

foram utilizados três marcadores (I2, I3 e I4) que nos indicam o lado da face do DNA origami e que são bem visíveis por AFM.

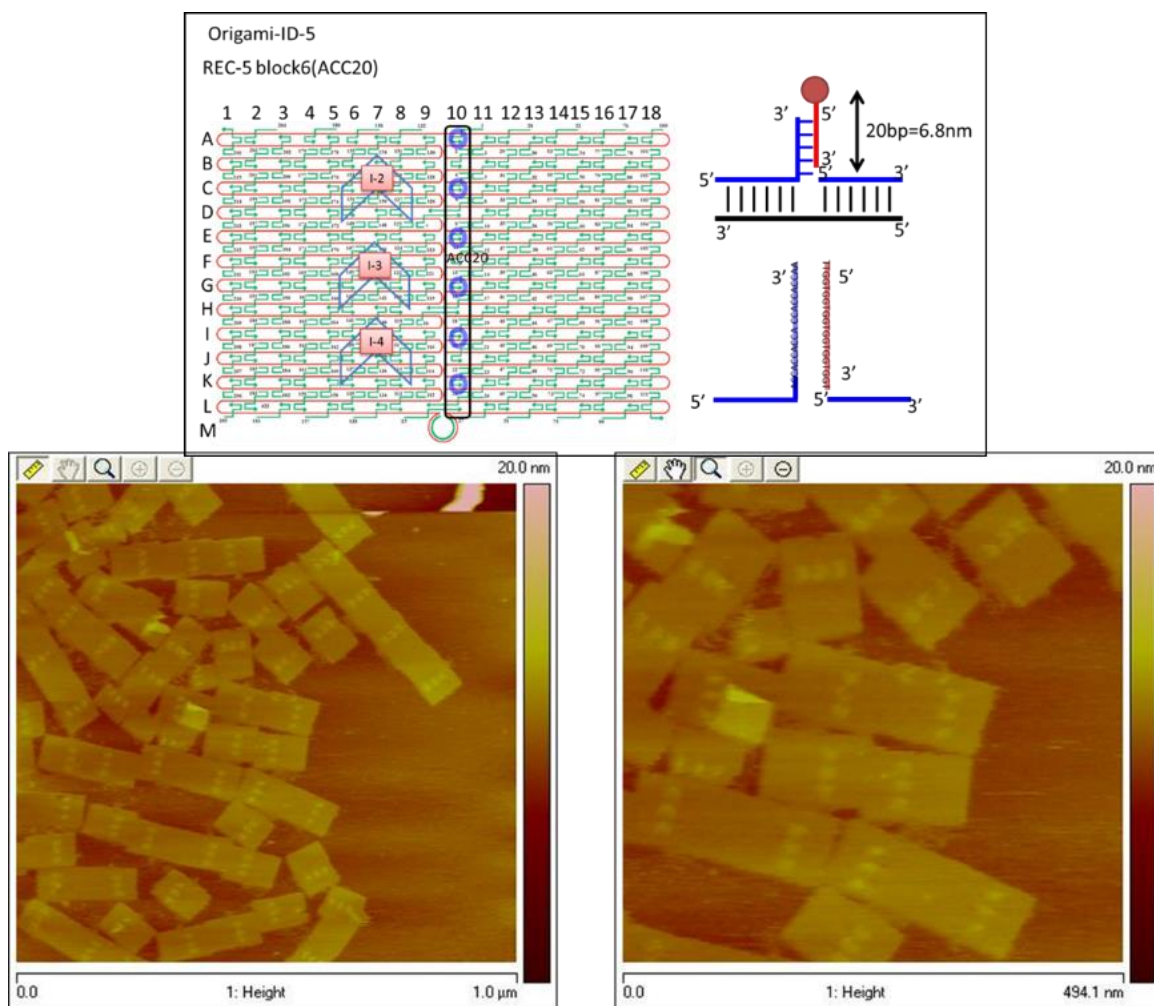


Figura 147 – Imagens AFM do DNA origami.

Comprovado a estabilidade do DNA origami proposto, efetuaram-se sistemas de DNA origami utilizando os marcadores e também os conjugados porfirina-Oligo e C_{60} -Oligos. Na Figura 148 está representado um sistema DNA origami constituído por 2 marcadores (I1 e I2) e o conjugado porfirina-Oligo sintetizado. Novamente os resultados obtidos por AFM comprovam a estabilidade dos sistemas obtidos.

A estratégia seguinte será o estudo de transferência eletrônica entre a porfirina-OligoDNA e o C_{60} -OligoDNA. Como este é um trabalho de colaboração que está a ser desenvolvido entre vários grupos, ainda não é possível apresentar aqui os resultados fotofísicos destes sistemas. Espera-se que num futuro próximo se possam obter e publicar.

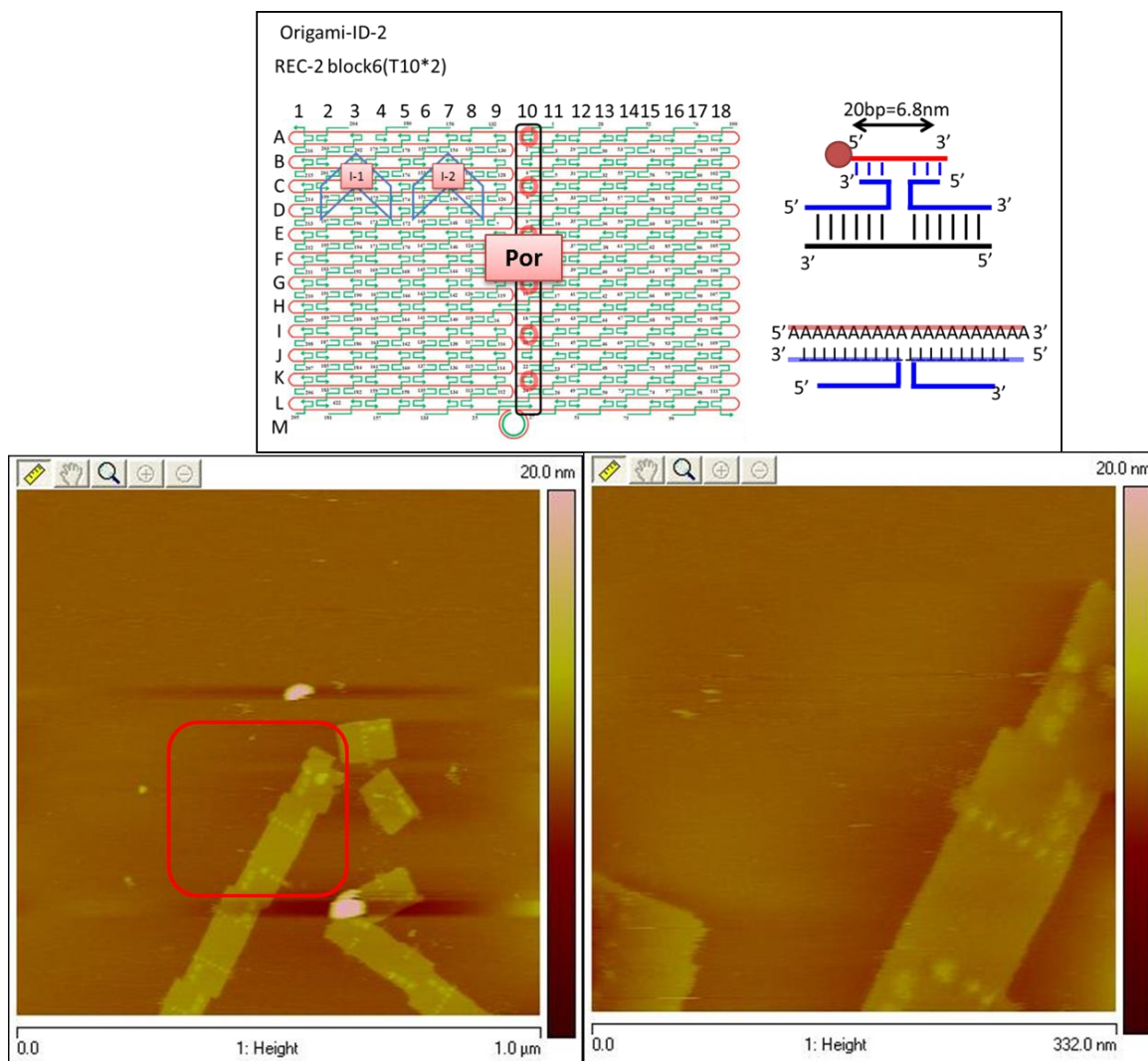


Figura 148 – Imagens AFM do DNA origami com a porfirina-Oligo-(GGT)₆TT.

5.7 Conclusões

Neste capítulo desenvolveram-se assim novos conjugados oligonucleotídeos de porfirina e C₆₀ capazes de se ligarem supramolecularmente a sítios complementares de origamis DNA previamente desenhados, sintetizados e caracterizados. Com esta técnica é possível posicionar de forma organizada e específica a porfirina e C₆₀, em diferentes posições relativas, para estudar a influência da sua disposição na transferência eletrônica. É de referir que conseguimos vários origamis com derivados da porfirina, estando em estudo os origamis DNA compostos pelos dois componentes fotônicos alinhados em diferentes arranjos, distâncias e rácios.

As porfirinas e C₆₀ desenvolvidos foram caracterizados por RMN de protão e massa. Os conjugados porfirina-OligoDNA e C₆₀-OligoDNA foram caracterizados por HPLC e

também por massa (MS-MALDI). Os origami de DNA propostos, aos quais foram acoplados os oligonucleotídeos porfirina e C₆₀, foram eficientemente sintetizados e caracterizados por AFM. Os primeiros estudos de conjugação supramolecular das porfirinas no origami foram conseguidos com sucesso e caracterizados por AFM. Ficam apenas a faltar os estudos de transferência eletrônica entre os componentes nestas arquiteturas/matrizes origami, avaliando dessa forma a influência do seu posicionamento relativo em termos de eficiência energética.

Com o conhecimento adquirido através deste trabalho, temos como objetivo explorar a mesma metodologia para organizar tridimensionalmente vários outros componentes, e explorar assim outras áreas tecnológicas, nomeadamente a dos sensores. No nosso caso poderemos dispor os nossos quimiossensores em diferentes arranjos espaciais, com precisão à escala molecular, para a deteção dos mais variados analitos. No entanto, para implementar estas matrizes em aplicações reais ter-se-á de desenvolver metodologias capazes de fixar os diferentes componentes ativos, uma vez que estas matrizes de DNA são relativamente instáveis.

CAPÍTULO VI
Parte Experimental

6 Parte Experimental

6.1 Reagentes, solventes e equipamento

Os reagentes comerciais, de diversas marcas, foram usados sem qualquer purificação prévia uma vez que os graus de pureza assim o permitiam.

O pirrol foi previamente destilado e os solventes utilizados nas diferentes etapas de síntese e cristalização eram analiticamente puros ou, quando necessário, eram previamente secos (o tolueno e o THF utilizado nas reações foram previamente secos em fio de sódio). Os solventes clorados (CH_2Cl_2 e CHCl_3) usados nas operações de purificação foram previamente destilados e passados por uma coluna de alumina neutra ativada.

As limalhas de magnésio foram ativadas com uma solução diluída de ácido clorídrico antes das reações, pois oxidavam com facilidade.

A evolução das reações foi sempre seguida por TLC, usando pequenas folhas plastificadas revestidas de sílica gel 60 (Merck) de espessura 0,2 mm.

A purificação dos componentes das várias misturas reacionais, quando necessária, foi sempre efetuada recorrendo a técnicas de cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária quer sílica gel de 0,063-0,200 mm (Merck) quer sílica gel de 0,032-0,063 mm ou por cromatografia de camada fina preparativa. As placas de cromatografia utilizadas eram de vidro (20x20 cm), previamente revestidas com uma camada de sílica gel 60 Merck, com uma espessura de 0,75 mm e posteriormente ativadas na estufa a 120 °C durante 12 horas.

Os espectros de massa foram realizados num espectrómetro de MALDI TOF/TOF 4800 Applied Biosystems usando $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ como solvente. Os espectros de massa de electrospray de alta resolução foram efetuados na Universidade de Vigo, num espectrómetro VG Autospec M usando $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ como solvente e álcool 3-nitrobenzílico (NBA) como matriz e na Universidade do Porto, num espectrómetro LTQ Orbitrap XL.

Os espectros de RMN foram obtidos em solução e registados num espectrómetro Bruker Avance AMX 300 operando a uma frequência de 300,13 MHz para ^1H , 75,47 MHz para ^{13}C e 282,40 MHz para ^{19}F , ou num espectrómetro Avance AMX 500, operando a 500,13 MHz para ^1H e 125,75 MHz para ^{13}C . O padrão interno utilizado foi o TMS ($\delta = 0$ ppm). Foram usados solventes deuterados tais como CDCl_3 , previamente passado por alumina, CD_3OD e $\text{DMSO}-d_6$.

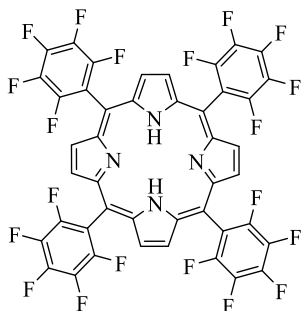
Os espectros de UV-Vis foram registados num espectrofotómetro UV 2051 PC – Shimadzu, usando células de quartzo de 1cm.

Os ensaios com a fibra ótica foram realizados a 23 °C numa câmara térmica (modelo CH340 da Challenge) e monitorizados pelo equipamento analisador ótico de redes (modelo 86038B da Agilent).

6.2 Síntese dos quimiossensores porfirínicos

Síntese da 5,10,15,20–Tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (TPPF₂₀)

A uma mistura de ácido acético glacial (400 mL) e nitrobenzeno (300 mL) em refluxo adicionou-se pentafluorobenzaldeído (8 mL; 0,065 mol). Posteriormente foi adicionado o pirrol (5 mL, 0,072 mol), gota a gota, com a ajuda de um funil de carga. A mistura foi refluxada durante 1 hora. Findo este tempo deixou-se arrefecer até cerca de 40 °C, dando-se início à destilação a pressão reduzida do ácido acético glacial e do nitrobenzeno até a secura. O resíduo obtido foi retomado em diclorometano e separado por cromatografia rápida de coluna usando como eluente hexano/diclorometano (3:1). Obteve-se uma primeira fração que foi identificada como sendo a 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (1,6 g, 10%). Após remoção do solvente a porfirina **TPPF₂₀** foi cristalizada em diclorometano/metanol dando origem a cristais de cor roxa.



RMN ¹H (CDCl₃): δ -2,93 (2H, s, NH), 8,92 (8H, s, β-H). **RMN ¹⁹F** (CDCl₃): δ -160,01 (dd, *J* = 24,5 e 7,4 Hz, 8F, m, *o*-F), -174,71 (t, *J* = 20,8 Hz, 4F, *p*-F), -184,9 a -184,7 (8F, m, *m*-F). **EM MALDI** (*m/z*): 975,0 (M+H)⁺. Estes dados espectroscópicos estão de acordo com os presentes na literatura.²⁶⁸

6.2.1 Procedimento geral para a preparação de derivados com grupo amino a partir da TPPF₂₀ por irradiação de micro-ondas

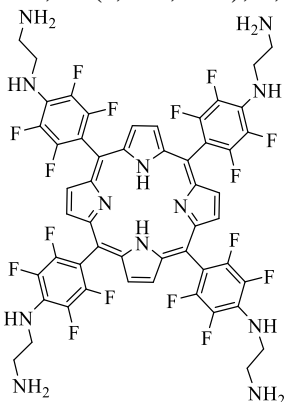
Num pequeno reator foi adicionado 50 mg de **TPPF₂₀** (51,3 μmol) e 10 equivalentes do derivado amina em *N*-metil-2-pirrolidona (NMP) (0,5 mL). O pequeno reator foi irradiado no micro-ondas (800 W, 1 bar, 200 °C, Mileston, MicroSYNTH) com impulsos de 3 minutos até não ser visível por TLC material de partida. Foram necessários cerca de 3 a 5 ciclos (9 a 15 minutos). Após este tempo, o solvente foi removido por corrente de azoto. A fase orgânica foi lavada com uma solução aquosa de KHCO₃, seca em sulfato de sódio

anidro e evaporada à secura. Os produtos finais foram diretamente cristalizados ou previamente purificados, através de uma coluna cromatográfica de sílica gel, e obtidos com rendimentos superiores a 65%.

meso-Tetraquis[4-(2-aminoetilamino)-2,3,5,6-tetrafluorofenil]porfirina (1)

Num pequeno reator a porfirina **TPPF₂₀** (50,0 mg, 51,3 μmol) foi dissolvida em NMP (0,5 mL) e foi adicionado um excesso de etilenodiamina (35,4 μL, 10 equiv.). A mistura reacional foi irradiada em 3 ciclos de 3 minutos (9 min). Após o procedimento descrito para finalizar a reação, o produto foi diretamente cristalizado em CHCl₃/MeOH obtendo-se um rendimento de 81% (41,2 mg).

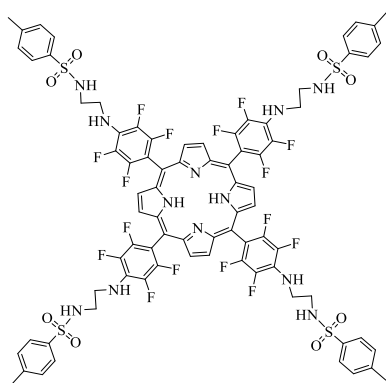
RMN ¹H (DMSO-*d*₆): δ -3,11 (s, 2H, NH), 2,96 (t, *J* = 6,2 Hz, 8H, CH₂), 3,06 (q, *J* = 6,2 Hz, 8H, CH₂), 6,44 (sl, 4H, NH-PhF₄), 9,23 (s, 8H, β-H); **RMN ¹H** (CDCl₃/DMSO-*d*₆): δ -2,94 (s, 2H, NH), 3,2 (t, *J* = 6,2 Hz, 8H, CH₂), 3,82 (q, *J* = 6,2 Hz, 8H, CH₂), 6,74 (sl, 4H, NH-PhF₄), 9,02 (s, 8H, β-H). **RMN ¹⁹F** (DMSO-*d*₆): δ -166,63 (d, *J* = 18,7 Hz, 8F, *o*-F), -184,34 (d, *J* = 18,7 Hz, 8F, *m*-F). **RMN ¹³C** (DMSO-*d*₆): δ 19,2; 28,5; 33,2; 45,2-45,7; 104,2-104,8; 129,7-129,9; 132,1-132,3; 134,8-135,1; 138,0-138,2; 144,7-144,8; 147,9-148,3; 158,0. **UV-Vis** (CHCl₃), λ_{max} (log ε): 421 (5,23), 512 (4,18), 587 (3,68), 656 (3,68). **HRMS-ESI** (*m/z*): Calculado para C₅₂H₃₉F₁₆N₁₂ [M+H]⁺ 1135,31597; encontrado 1135,31798.



meso-Tetraquis[4-(*N*-tosiletilenodiamina)-2,3,5,6-tetrafluorofenil]porfirina (2) e 5,10,15-Tris[2,3,5,6-tetrafluoro-4-(*N*-tosiletilenodiamina)]-20-(pentafluorofenil)porfirina (2a)

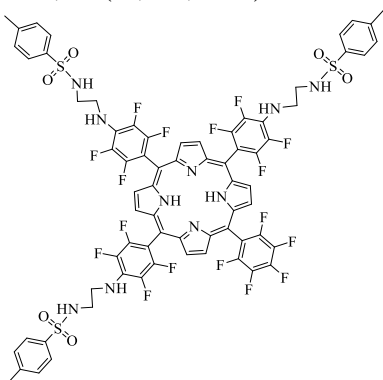
Num pequeno reator a porfirina **TPPF₂₀** (50,0 mg, 51,3 μmol) foi dissolvida em NMP (0,5 mL) tendo-se adicionado um excesso de *N*-tosiletilenodiamina (110,0 mg, 10 equiv.). A mistura reacional foi irradiada em 4 ciclos de 3 minutos (12 min). Após o procedimento descrito para finalizar a reação, os produtos foram purificados através de uma coluna de sílica gel usando CH₂Cl₂/MeOH (95:5) como eluente. Os produtos finais foram diretamente cristalizados em MeOH/H₂O obtendo-se um rendimento de 64,8% (63,2 mg) para o composto **2** e 19,0% (18 mg) para o composto **2a**.

2 – **RMN ¹H** (DMSO-*d*₆): δ -3,13 (s, 2H, NH), 2,36 (s, 12H, Ts-CH₃), 3,18 (q, *J* = 5,9 Hz, 8H, CH₂), 3,63 (q, *J* = 5,9 Hz, 8H, CH₂), 6,47 (sl, 4H, NH-PhF₄), 7,47 (d, *J* = 8,2 Hz, 8H, Ts-*o*-H), 7,81 (d, *J* = 8,2 Hz, 8H, Ts-*m*-H), 7,90 (t, *J* = 5,9 Hz, 4H, NH-Ts), 9,22 (s, 8H, β-H). **RMN ¹H** (CDCl₃/DMSO-*d*₆): δ -2,92 (s, 2H, NH), 2,38 (s, 12H, Ts-CH₃), 3,31 (q, *J* = 5,7 Hz, 8H, CH₂), 3,75 (q, *J* = 5,7 Hz, 8H, CH₂), 5,44 (s, 4H, NH-PhF₄), 7,38 (d, *J* = 8,1 Hz, 8H, Ts-*o*-H), 7,48 (t, *J* = 5,7 Hz, 4H, NH-Ts), 7,86 (d, *J* = 8,3 Hz, 8H, Ts-*m*-H), 8,97 (s, 8H, β-H). **RMN ¹⁹F** (DMSO-*d*₆): δ -166,65 (d, *J* = 18,8 Hz, 8F, *o*-F), -183,77 (d, *J* = 18,8 Hz,



8F, *m*-F). **RMN ¹³C** (DMSO-*d*₆): δ 21,0; 40,8-41,9; 43,3; 44,4; 104,5-105,0; 126,6; 129,4-129,8; 131,8-132,3; 135,0-135,3; 137,7; 142,7; 144,6-144,9; 147,7-147,9. **UV-Vis** (CHCl₃), λ_{max} (log ε): 421 (5,49), 511 (4,35), 586 (3,86), 653 (3,26). **HRMS-ESI** (*m/z*): Calculado para C₈₀H₆₃F₁₆N₁₂O₈S₄ [M+H]⁺ 1751,35137; encontrado 1751,35098; Calculado para C₈₀H₆₄F₁₆N₁₂O₈S₄ [M+2H]²⁺ 876,17932; encontrado 876,17862.

2a – **RMN ¹H** (DMSO-*d*₆): δ -3,15 (s, 2H, NH), 2,37 (s, 9H, CH₃), 3,18 (q, *J* = 6,1 Hz, 6H, CH₂), 3,64 (q, *J* = 6,1 Hz, 6H, CH₂), 6,48 (sl, 3H, NH), 7,47 (d, *J* = 8,2 Hz, 6H, Ts-*o*-H), 7,81 (d, *J* = 8,2 Hz, 6H, Ts-*m*-H), 7,90 (t, *J* = 6,1 Hz, 3H, NH-Ts), 9,24-9,33 (m, 8H, β-H). **RMN ¹⁹F** (DMSO-*d*₆): δ -163,02 (dd, *J* = 26,4 e 5,3 Hz, 2F, *o*-F), -166,67 (d, *J* = 18,4 Hz, 6F, *o*-F-Ts), -177,51 (t, *J* = 22,4 Hz, 1F, *p*-F), -183,66 a -183,77 (m, 6F, *m*-F-Ts), -186,24 a -186,41 (m, 2F, *m*-F). **RMN ¹³C** (DMSO-*d*₆): δ 21,0; 43,3; 44,3; 102,3; 104,4; 104,6; 104,9;



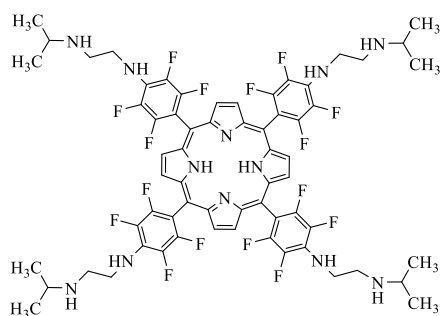
105,1; 105,3; 115,0; 126,6; 129,5; 129,7; 132,4; 132,6; 135,1; 137,7; 138,1; 138,3; 142,7; 144,6; 147,9; 154,8. **UV-Vis** (CHCl₃), λ_{max} (log ε): 421 (5,36), 511 (4,26), 586 (3,86), 653 (3,42). **HRMS-ESI** (*m/z*): Calculado para C₇₁H₅₀F₁₇N₁₀O₆S₃ [M+H]⁺ 1557,28000; encontrado 1557,27947; Calculado para C₇₁H₅₁F₁₇N₁₀O₆S₃ [M+2H]²⁺ 779,14364; encontrado 779,14335.

meso-Tetraquis[4-(*N*-isopropiletilenodiamina)-2,3,5,6-tetrafluorofenil] porfirina (3)

Num pequeno reator a porfirina **TPPF₂₀** (50,0 mg, 51,3 μmol) foi dissolvida em NMP (0,5 mL), tendo-se adicionado de seguida um excesso de *N*-isopropiletilenodiamina (63 μL,

10 equiv.). A mistura reacional foi irradiada em 5 ciclos de 3 minutos (15 min). Após o procedimento descrito para finalizar a reação, o produto foi diretamente cristalizado em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ obtendo-se um rendimento final de 83,2% (55,8 mg).

RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$): δ -3,11 (s, 2H, NH), 1,17 (d, $J = 6,3$ Hz, 24H, CH_3), 3,06 (d, $J = 5,0$ Hz, 8H, CH_2), 3,73 (d, $J = 5,0$ Hz, 8H, CH_2), 6,49 (s, 4H, NH- PhF_4), 9,23 (s, 8H, β -H); **RMN ^1H** ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$): δ -2,96 (s, 2H, NH), 1,55 (d, $J = 6,2$ Hz, 24H, CH_3), 3,56-3,65 (m, 8H, CH_2), 4,04-4,27 (m, 8H, CH_2), 6,46 (s, 4H, NH- PhF_4), 9,04 (s, 8H, β -H). **RMN ^{19}F** ($\text{DMSO}-d_6$): δ -166,49 (d, $J = 18,4$ Hz, 8F, o -F), -183,09 (d, $J = 18,4$ Hz, 8F, m -F). **RMN ^{13}C** ($\text{DMSO}-d_6$): 17,2; 19,3; 19,9; 20,5; 21,2; 22,7; 40,8; 43,6; 45,9; 48,5; 48,7; 79,3; 104,4;



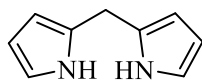
129,6; 132,0; 135,0; 138,1; 141,0; 144,5; 147,6. **UV-Vis** (CHCl_3), λ_{max} (log ϵ): 421 (5,40), 511 (4,31), 587 (3,81), 655 (3,84). **HRMS-ESI** (m/z): Calculado para $\text{C}_{64}\text{H}_{63}\text{F}_{16}\text{N}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1303,50377; encontrado 1303,50460.

6.2.2 Síntese de porfirinas dissustituídas

Dipirrometano (4)

Num balão de fundo redondo foram adicionados 100 mL de pirrol (1,44 mol) e 1,73 g de paraformaldeído (57,7 mmol). A solução foi aquecida, sob atmosfera inerte, até 50 °C e foram adicionados 500 μL de TFA (5,85 mmol), verificando-se um aquecimento súbito da solução até 70 °C e um gradual escurecimento da cor inicial da solução para verde-escuro. Após 5 minutos, foram adicionados 5 mL de uma solução de NaOH (0,1 M). Deixou-se arrefecer e adicionou-se de seguida 100 mL de acetato de etilo, lavando-se a fase orgânica com água destilada. A fase orgânica foi subsequentemente seca sob sulfato de sódio anidro e, após concentração no evaporador rotativo, obteve-se um óleo que foi destilado a pressão reduzida. O sólido obtido, após destilação, foi dissolvido em acetato de etilo e recristalizado com água/etanol 1:1 obtendo-se 2,65 g de cristais brancos (38%).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 3,95 (s, 2H, H-5), 6,01-6,05 (m, 2H, H-3), 6,15 (dd, $J = 5,5$ e $2,7$ Hz, 2H, H-2), 6,63 ($J = 5,5$ e $2,7$ Hz, 2H, H-1), 7,79 (s, 2H, NH). **RMN ^{13}C** (CDCl_3): 26,3; 106,4;

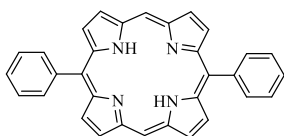


108,3; 117,3; 129,1. **MS-ESI** (m/z): 185,1 $[\text{M}+\text{K}]^+$. Estes dados espectroscópicos estão de acordo com os presentes na literatura.¹⁸⁶

5,15-Difenilporfirina (5)

Num balão de 1 litro foram adicionados 450 mg (3,0 mmol) do dipirrometano **4**, 315 μL (3,0 mmol) de benzaldeído e 600 mL de diclorometano. A solução foi borbulhada com uma corrente de azoto durante 10 minutos. Adicionaram-se 150 μL (2,00 mmol) de TFA, o balão foi protegido da luz e a solução permaneceu em agitação durante 3 horas à temperatura ambiente. Foram adicionados 900 mg de DDQ (4,0 mmol) e a solução foi mantida em agitação durante mais 30 minutos. Terminou-se a reação e lavou-se a mistura reacional com uma solução saturada de carbonato de potássio. Após extração com diclorometano purificou-se a mistura reacional numa coluna de sílica gel, usando como eluente uma mistura de diclorometano/hexano (1:1), obtendo-se a porfirina **5** com um rendimento de 64%.

RMN ^1H (CDCl_3): δ -3,12 (s, 2H, NH), 7,76-7,86 (m, 6H, *m* e *p*-H), 8,22-8,32 (m, 4H, *o*-H), 9,09 (d, $J = 4,6$ Hz, 4H, β -H), 9,40 (d, $J = 4,6$ Hz, 4H, β -H), 10,32 (s, 2H, H-5,15). **RMN**



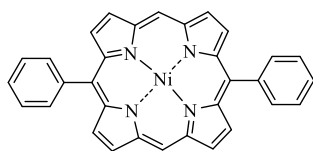
^{13}C (CDCl_3): 127,0; 127,5; 131,2; 131,6; 135,0; 141,5; 145,4; 147,1.

MS-MALDI (m/z): 463,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Estes dados espectroscópicos estão de acordo com os presentes na literatura.¹⁸⁶

5,15-Difenilporfirinatóníquel(II) (6)

A uma solução do derivado porfirínico **5** (100 mg; 0,20 mmol) em diclorometano/metanol (30:15) adicionou-se acetato de níquel em excesso (400 mg; 1,6 mmol). A mistura reacional foi mantida em refluxo, sob agitação, durante 36 h. Durante este período, e em intervalos de aproximadamente 12 horas, foram adicionadas à mistura reacional mais 100 mg de acetato de níquel tetra-hidratado. Depois de desligado o aquecimento e atingida a temperatura ambiente, a mistura reacional foi lavada com água, a fase orgânica extraída com diclorometano e depois evaporada à secua a pressão reduzida. O resíduo foi retomado em diclorometano e cristalizado numa mistura de diclorometano/metanol. O composto **6** foi obtido com um rendimento de 93% (102 mg).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 7,61-7,71 (m, 6H, *m* e *p*-H), 8,07-8,17 (m, 4H, *o*-H), 8,89 (d, $J = 4,6$



Hz, 4H, β -H), 9,18 (d, $J = 4,6$ Hz, 4H, β -H), 9,92 (s, 2H, H-5,15).

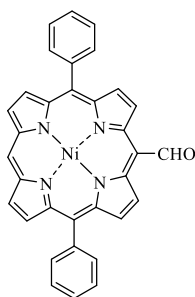
RMN ^{13}C (CDCl_3): 126,6; 127,1; 130,8; 131,2; 134,6; 141,1;

145,8; 147,5. **MS-MALDI** (m/z): 520,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5,15-Difenil-10-formilporfirinatóníquel(II) (7)

Preparação do reagente de Vilsmeier: Num balão de fundo redondo de 50 mL com duas tubuladuras, e sob corrente de azoto, juntou-se a 1 mL de DMF a 2,5 mL de diclorometano passado por alumina. A mistura reacional foi colocada em banho de gelo, adicionando-se então, sob corrente de azoto, o POCl_3 (0,50 mL; 4,3 mmol). A mistura permaneceu durante 30 min no banho de gelo sob agitação e atmosfera de azoto. A mistura reacional de cor vermelha foi depois mantida à temperatura ambiente por mais 30 min.

Reação de formilação: O reagente de Vilsmeier preparado anteriormente foi adicionado a uma solução de **6** (275 mg; 0,5 mmol) em diclorometano (100 mL) previamente borbulhada com azoto. A mistura reacional foi mantida em refluxo, sob agitação, durante 7 horas. Depois de desligado o aquecimento e atingida a temperatura ambiente foi adicionado ao balão reacional uma solução aquosa saturada de carbonato de sódio. A mistura reacional foi deixada sob agitação vigorosa, à temperatura ambiente, durante a noite. Findo esse tempo, a fase orgânica foi lavada com água e extraída com diclorometano, seca através de sulfato de sódio anidro e evaporada até à secura com o auxílio do evaporador rotativo. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia de coluna em sílica gel, utilizando uma mistura de diclorometano/hexano (90:10) como eluente. O produto foi cristalizado numa mistura de diclorometano/hexano e obtido com um rendimento de 70% (172 mg).



RMN ^1H (CDCl_3): δ 7,70-7,90 (m, 6H, *m* e *p*-H), 8,19 (dd, $J = 7,6$ e 1,8 Hz, 4H, *o*-H), 8,86 (d, $J = 4,6$ Hz, 2H, β -H), 9,04 (d, $J = 5,0$ Hz, 2H, β -H), 9,25 (d, $J = 4,6$ Hz, 2H, β -H), 10,05 (d, $J = 5,0$ Hz, 2H, β -H), 10,22

(s, 1H, H-20), 12,55 (s, 1H, CHO) **RMN ^{13}C** (CDCl_3): 106,3; 108,6;

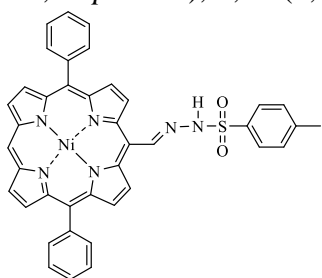
120,4; 127,1; 128,1; 130,5; 132,3; 133,2; 133,5; 135,3; 140,0; 141,1;

141,7; 144,2; 144,2; 193,1 (CHO). **MS-MALDI** (m/z): 548,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5,15-Difenil-10-[(2-tosil-hidrazono)metil]porfirinatóníquel(II) (**8**)

Num balão de 100 mL foram adicionados 90 mg da porfirina **7** (16,4 mmol) e 459,3 mg de *p*-toluenesulfonil hidrazina (82,2 mmol, 15 equiv.) em 20 mL de THF. A solução foi deixada sob atmosfera de azoto e ficou a reagir a 50 °C durante a noite. A porfirina de partida que aparentava uma cor verde mudou para tons de vermelho. Terminou-se a reação e lavou-se a mistura reacional com uma solução saturada de ácido cítrico. Após extração com diclorometano purificou-se a mistura reacional numa coluna de sílica gel usando diclorometano como eluente obtendo-se a porfirina **8** com um rendimento de 72%.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,32 (s, 3H, CH₃), 7,44 (d, *J*= 8,2 Hz, 2H, Ts-*o*-H), 7,87-7,74 (m, 6H, *m-p*-Ph-H), 7,90 (d, *J*= 8,2 Hz, 2H, Ts-*m*-H), 7,99 (dd, *J*= 7,4 e 1,9 Hz, 4H, *o*-Ph-H), 8,74 (d, *J*= 5,0 Hz, 4H, β-H), 9,36 (dd, *J*= 8,0 e 5,0 Hz, 4H, β-H),



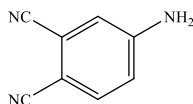
10,09 (s, 1H, H-20), 10,14 (s, 1H, CH), 12,13 (s, 1H, NH). **RMN ¹³C** (CDCl₃): 21,0 (CH₃); 106,7; 107,7; 118,8; 127,2; 127,6; 128,2; 129,9; 131,7; 132,6; 133,4; 134,0; 136,3; 139,6; 141,0; 141,2; 142,3; 142,5; 143,7; 148,2.

6.3 Síntese de quimiossensores ftalocianínicos

4-Aminoftalonitrilo (**9**)

Num balão de duas tubuladuras de 250 mL foi colocado em agitação à temperatura ambiente uma mistura de metanol (110 mL) e ácido clorídrico concentrado (25 mL), à qual se adicionou o 4-nitroftalonitrilo (5,0 g; 29,2 mmol). Esta mistura foi aquecida à ebulição (90-100 °C) e após dissolução completa do sólido, foi adicionado ferro em pó (5,50 g; 99,0 mmol) em pequenas porções durante cerca de uma hora. Deixou-se a solução castanha sob agitação e refluxo durante uma hora. Findo este período de tempo, deixou-se arrefecer a solução à temperatura ambiente, sendo de seguida adicionada a uma mistura de gelo e água (150 mL). O sólido branco-amarelado que se formou foi filtrado por um funil de Buckner, lavado com água e seco a pressão reduzida. O sólido foi dissolvido em metanol a quente e filtrado por um filtro de pregas. O 4-aminoftalonitrilo **9**, após evaporação do solvente a pressão reduzida, foi obtido com rendimento de 83% (3,50 g).

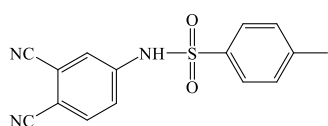
p.f. = 74,1 °C. **RMN ¹H** (DMSO-*d*₆): δ 6,72 (s, 2H, NH₂), 6,87 (dd, *J* = 8,7 e 2,3 Hz, 1H, H-5), 7,03 (d, *J*=2,3 Hz, 1H, H-3), 7,65 (d, *J* = 8,7 Hz, H-6) **HRMS-ESI** (*m/z*): Calculado para C₈H₅N₃ [M+H]⁺ 144,05617; encontrado 144,05510.



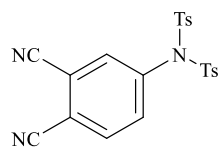
4-Tosilaminoftalonitrilo (10) e 4-(N,N-di(tosilamino))ftalonitrilo (11)

A uma solução de 4-aminoftalonitrilo (400 mg, 2,69 mmol) em tolueno seco (10 mL) foi adicionado o cloreto de tolueno-4-sulfonilo (1,1 equiv., 1,064 g, 3,07 mol) e a piridina (1 mL). A mistura foi colocada em agitação num banho de óleo, a 70 °C, sob atmosfera de azoto e deixou-se reagir durante 3 horas. Controlou-se a reação por TLC e deixou-se reagir durante mais 3 horas. Findo esse tempo evaporou-se o tolueno e a piridina a pressão reduzido. A mistura reacional foi neutralizada com uma solução saturada de carbonato de sódio, lavada com água, extraída com diclorometano e a fase orgânica foi seca através de sulfato de sódio anidro. A mistura obtida foi purificada por cromatografia em coluna, usando diclorometano como eluente. Foi obtida uma primeira fração que foi cristalizada em diclorometano/hexano e identificada como sendo o composto **10** (597 mg, 64%) e uma segunda fração, também ela cristalizada em diclorometano/hexano e que foi identificada como sendo o composto **11** (280 mg, 31%). Os compostos obtidos apresentam-se na forma de um sólido branco.

p.f. = 147,8 °C. **RMN ¹H** (DMSO-*d*₆): δ 2,36 (s, 3H, CH₃), 6,72 (sl, 1H, NH), 7,42 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, *o*-Ts H), 7,52 (dd, *J* = 8,7, 2,3 Hz, 1H, H-5), 7,61 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H, H-3), 7,79 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, *m*-Ts H), 7,98 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, H-6). **RMN ¹³C** (DMSO-*d*₆): δ 21,1 (CH₃); 108,1; 115,6; 115,95; 116,04; 121,8; 121,9; 126,9; 130,2; 135,6; 135,8; 142,9; 144,5. **HRMS-ESI** (*m/z*): calculado para C₁₅H₁₂N₃O₂S [M+H]⁺: 298,0650; encontrado: 298,0636.



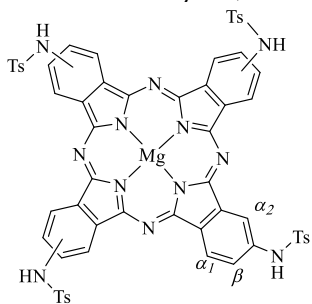
p.f. = 151,2 °C. **RMN ¹H** (DMSO-*d*₆): δ 2,47 (s, 3H, CH₃), 7,49 (d, *J* = 8,5 Hz, 4H, *o*-Ts H), 7,53 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, H-5), 7,70 (d, *J* = 8,5 Hz, 4H, *m*-Ts H), 8,07 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, H-3), 8,07 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-6). **RMN ¹³C** (DMSO-*d*₆): δ 21,3 (CH₃); 114,9; 115,2; 116,4; 116,8; 128,4; 130,2; 134,7; 135,3; 136,6; 137,1; 137,8; 146,2. **HRMS-ESI** (*m/z*): calculado para C₂₂H₁₇N₃O₄S₂ [M+H]⁺: 452,07387; encontrado: 452,07150.

**2,9(10),16(17),23(24)-Tetra(tosilamino)ftalocianinatomagnésio(II) (12)**

Num tubo selado colocaram-se filamentos de magnésio (0,5 equiv., 24,5 mg, 1,01 mmol) em pentan-1-ol (1,5 mL) a 150 °C até os filamentos de magnésio ficarem num gel. De seguida adicionou-se o octan-1-ol (1,5 mL) e aumentou-se a temperatura para 180 °C. Quando a temperatura estabilizou, foi adicionado o ftalonitrilo **10** (600 mg, 2,02 mmol). A

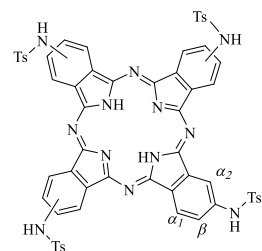
mistura reacional foi deixada durante 12 horas a 180 °C onde se verificou o consumo total do composto de partida e a formação de um novo composto de cor verde. Terminada a reação arrefeceu-se a mistura reacional, precipitou-se o produto obtido com uma mistura de água/metanol (1:9) e filtrou-se o precipitado. Dissolveu-se o precipitado em diclorometano/metanol, fez-se uma lavagem, extraiu-se a fase orgânica e evaporou-se à secura. Recristalizou-se o produto numa mistura diclorometano e metanol/hexano e filtrou-se o sólido verde a pressão reduzida com ajuda de uma membrana. O produto foi caracterizado como sendo a ftalocianina **12** (208 mg, 71%).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,26 (s, 12H, CH₃), 7,41 (t, *J* = 8,1 Hz, 8H, *o*-Ts H), 7,87-8,08 (m, 12H, *m*-Ts H + β-H), 9,08 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H, α₂-H), 9,13 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H, α₂-H), 9,21 (dd, *J* = 8,1, 1,6 Hz, 4H, α₁-H), 11,17 (sl, 4H, NH). **RMN ¹³C** (DMSO-*d*₆): δ 20,9 (CH₃); 112,6; 113,0; 121,4; 123,7; 127,0; 130,0; 133,7; 136,8; 139,4; 139,8; 143,6; 152,2; 153,6. **UV-Vis** (DMSO) λ_{max} (log ε): 360 (4,6), 690 (5,2) nm. **HRMS-ESI** (*m/z*): calculado para C₆₀H₄₅MgN₁₂O₈S₄ [M+H]⁺: 1213,2217; encontrado: 1213,2165.



2,9(10),16(17),23(24)-Tetra(tosilamino)ftalocianina (**13**)

Num balão de 50 mL equipado com um condensador, dissolveu-se a ftalocianina **12** (100 mg) em THF (10 mL) seco em fio de sódio. À solução foi adicionado ácido trifluoroacético (1 mL), tendo-se deixado a mistura reacional e agitar a 50 °C. Ao fim de 3 horas controlou-se a descomplexação por UV-Vis e por TLC, tendo-se verificado a formação de uma nova mancha que apresentou desdobramento da banda Q, provando assim a descomplexação do composto **12**. A mistura reacional foi arrefecida, extraída com diclorometano, lavada, neutralizada com uma solução de KHCO₃ e evaporou-se a fase orgânica à secura. O produto final, de cor verde, foi cristalizado em diclorometano/hexano e identificado como sendo a ftalocianina **13** (96 mg, 98%).

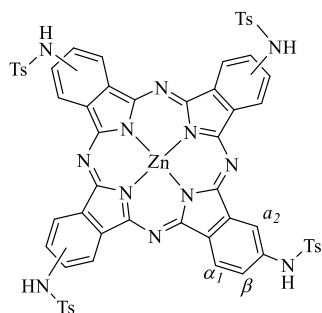


Num balão de 50 mL equipado com um condensador, dissolveu-se a ftalocianina **12** (100 mg) em THF (10 mL) seco em fio de sódio. À solução foi adicionado ácido trifluoroacético (1 mL), tendo-se deixado a mistura reacional e agitar a 50 °C. Ao fim de 3 horas controlou-se a descomplexação por UV-Vis e por TLC, tendo-se verificado a formação de uma nova mancha que apresentou desdobramento da banda Q, provando assim a descomplexação do composto **12**. A mistura reacional foi arrefecida, extraída com diclorometano, lavada, neutralizada com uma solução de KHCO₃ e evaporou-se a fase orgânica à secura. O produto final, de cor verde, foi cristalizado em diclorometano/hexano e identificado como sendo a ftalocianina **13** (96 mg, 98%).

UV-Vis (DMSO) λ_{max} (log ε): 350 (4,1), 680 (4,4), 710 (5,1) nm. **HRMS-ESI** (*m/z*): calculado para C₆₀H₄₇N₁₂O₈S₄ [M+H]⁺: 1191,2523; encontrado: 1191,0396.

2,9(10),16(17),23(24)-Tetra(tosilamino)ftalocianinatozínco(II) (14)

Num tubo selado, dissolveu-se o composto **13** (500 mg, 0,084 mmol) em DMF (3 mL) e de seguida foi adicionado o acetato de zinco (2,5 equiv, 36,7 mg, 0,210 mmol). A mistura reacional foi aquecida a 150 °C durante 3 horas, tendo-se controlado a complexação do macrociclo por UV-Vis e TLC. A mistura reacional foi arrefecida, lavada com água, sendo a fase orgânica extraída com uma mistura de diclorometano e metanol, seca por sulfato de



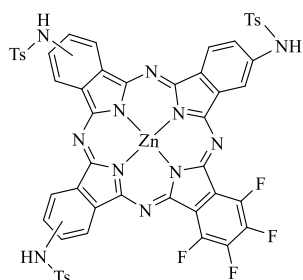
sódio anidro e concentrada. Precipitou-se o produto final, de cor verde, em diclorometano/hexano, obtendo-se a ftalocianina **14** com 98% (112 mg) de rendimento.

UV-Vis (DMSO) λ_{max} (log ϵ): 355 (4,5), 688 (5,2) nm. **HRMS-ESI** (m/z): calculado para $\text{C}_{60}\text{H}_{45}\text{N}_{12}\text{O}_8\text{S}_4\text{Zn}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1253,1658; encontrado: 1253,1607.

1,2,3,4-Tetrafluoro-9,16(17),23(24)-Tris(tosilamino)ftalocianinatozínco(II) (19)

Num tubo selado, dissolveu-se o ftalonitrilo **10** (500 mg, 1,68 mmol) e o tetrafluoroftalonitrilo (57 mg, 0,28 mmol) em 1-cloronaftaleno (5 mL), tendo-se de seguida adicionado acetato de zinco (93,5 mg, 0,64 mmol). A mistura reacional ficou em agitação a 150 °C durante 24 horas onde se verificou o consumo total dos ftalonitrilos de partida e a mudança da cor da solução para verde. Findo esse período arrefeceu-se a mistura reacional, precipitou-se o produto com água e filtrou-se. Dissolveu-se o precipitado numa solução de diclorometano/metanol e lavou-se com água, tendo-se depois evaporado a fase orgânica à secura. O resíduo obtido foi retomado em THF e as diferentes frações separadas por cromatografia rápida de coluna usando como eluente THF/hexano (1:1) para as três primeiras frações e THF/hexano (3:1) para as últimas duas. A quarta fração foi identificada como sendo o composto **19** (36 mg, 6%) e a quinta fração foi identificada como sendo o composto **14** (98 mg, 15%). Estes compostos foram precipitados em diclorometano/hexano.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,26 (s, 9H, CH₃), 7,30-7,54 (m, 6H, *o*-Ts H), 7,83-8,19 (m, 9H, *m*-Ts H + β-H), 8,79-9,15 (m, 6H, α-H), 11,17 (s, 3H, NH). **RMN ¹⁹F** (DMSO-*d*₆): δ -133,39 a -133,73 (m, 2F, α -F), -160,78 a -160,89 (m, 2F, β -F). **NMR ¹³C** (DMSO-*d*₆): δ 21,2 (CH₃); 112,1; 121,6; 123,3; 126,8; 130,0; 133,3; 136,8; 139,0; 139,7; 143,7; 154,5; 162,3. **UV-Vis** (DMSO) λ_{max} (log ε): 355 (4,2), 670 (4,8) nm. **HRMS-ESI** (*m/z*): calculado para C₅₃H₃₃F₄N₁₁O₆S₃Zn [M+H]⁺: 1157,1589; encontrado: 1158,987807.



6.4 Quimiossensores suportados em materiais

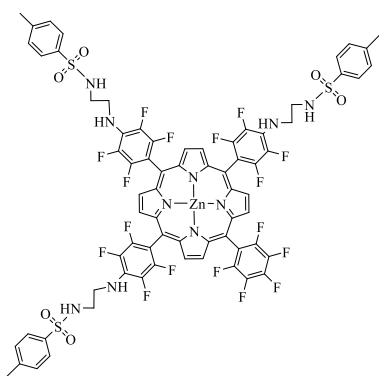
Síntese do NM1 e NM2 – Procedimento geral

A uma solução de porfirina (**TPPF₂₀** ou **2a**) (20,0 mg) em DMSO (1 mL) foi adicionado MPTS (8 ou 2 equiv.) e K₂CO₃ (25,0 mg). A mistura reacional foi mantida em agitação magnética a 40 °C e sob atmosfera de azoto. A reação foi monitorizada por TLC e ao fim de 12 horas obtiveram-se os compostos **21** e **22**. De seguida adicionaram-se as NPS (82,0 mg) deixando-se reagir durante 2 dias à temperatura ambiente. Após observação da formação de um produto insolúvel (**NM1** e **NM2**) de cor avermelhada, terminou-se a reação. Filtrou-se o material por uma membrana, lavando-se muito bem com uma mistura diclorometano/metanol até não se observar a saída de porfirina no solvente de lavagem. Os materiais, **NM1** e **NM2**, foram secos na estufa a 50 °C.

5,10,15-Tris[2,3,5,6-tetrafluoro-4-(*N*-tosiletenodiamina)]-20-(pentafluorofenilo) porfirinatozínco(II) – **2aZn(II)**

Dissolveram-se 50 mg do derivado porfirínico **2a** numa mistura diclorometano/metanol (20:10, 15 mL) e adicionou-se acetato de zinco em grande excesso (42,1 mg, 0,32 mmol). A mistura reacional foi deixada em agitação a 50 °C durante 1 hora, findo a qual a mistura reacional foi evaporada à securo, o resíduo retomado em diclorometano e lavado com água destilada, de modo a remover o excesso de acetato de zinco. De seguida, a fase orgânica foi seca por sulfato de sódio anidro e concentrada, tendo-se cristalizado o complexo de zinco porfirínico **2aZn(II)** em diclorometano/hexano quantitativamente.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,36 (s, 9H, CH₃), 3,16 (q, *J* = 6,0 Hz, 6H, CH₂), 3,61 (q, *J* = 6,0 Hz, 6H, CH₂), 6,39 (sl, 3H, NH), 7,47 (d, *J* = 8,2 Hz, 6H, Ts-*o*-H), 7,81 (d, *J* = 8,2 Hz, 6H,



Ts-*m*-H), 7,91 (t, $J = 6,0$ Hz, 3H, NH-Ts), 9,07-9,16 (m, 8H, β -H). **RMN ^{19}F** (DMSO- d_6): δ -165,27 (dd, $J = 23,1$ e 6,3 Hz, 2F, *o*-F), -166,22 (d, $J = 17,8$ Hz, 6F, *o*-F), -178,23 (t, $J = 22,4$ Hz, 1F, *p*-F), -184,01 to -184,11 (m, 6F, *m*-F-Ts), -186,73 a -186,82 (m, 2F, *m*-F). **UV-Vis** (CHCl₃), λ_{max} (log ϵ): 421 (5,28), 533 (4,15), 574 (3,75). **MS-MALDI** (m/z): 1620,0 (M+H)⁺.

Síntese das nanopartículas de sílica magnéticas (NPSM)

A síntese das NPSM foi efetuada em três etapas: síntese do núcleo magnético de óxido de ferro (Fe₃O₄), revestimento com sílica e funcionalização recorrendo ao alcoxi-silano APTES. A preparação do núcleo ferroso foi realizada recorrendo ao método da co-precipitação de sais de Fe(II) e Fe(III) por adição de base (amónia). A uma solução aquosa (100 mL) a pH 1 contendo FeNH₄(SO₄)₂ (2,90 g; 6,0 mmol) (fonte de Fe(III)) e (NH₄)₂Fe(SO₄)₂ (1,20 g; 3,0 mmol) (fonte de Fe(II)), a 80 °C, é adicionado a amónia (3,5 mL), gota a gota, sob agitação magnética. Este procedimento proporciona uma rápida formação de um precipitado de cor preta, sendo a reação terminada quando a solução atinge pH 6. O precipitado formado foi lavado e retomado em água destilada (100 mL). O revestimento de sílica foi realizado recorrendo ao método do ácido silícico, usando meta-silicato de sódio como fonte de óxido de silício. À suspensão anterior foi adicionada, sob agitação mecânica, uma solução aquosa (100 mL) de meta-silicato de sódio (23,5 g; 0,110 mol) e o pH da solução ajustado a 12 – 13 com adição de gotas de HCl a 37%. Uma vez terminada a adição da fonte de sílica observou-se a formação de uma mistura com aspeto pastoso (indicando agregação das nanopartículas). A desagregação destas nanopartículas revestidas de sílica é realizada por ajuste quer do volume da solução (400 mL) quer por utilização prolongada de radiação ultrassons (2 ou 3 ciclos de 30 minutos). Por fim as nanopartículas foram derivatizadas recorrendo a APTES. Para isso a suspensão de nanopartículas foi retomada em etanol, adicionou-se APTES e a mistura foi mantida em agitação magnética à temperatura ambiente dando-se a reação por terminada ao fim de 24 horas. A suspensão foi filtrada e lavada com etanol, tendo no final sido retomada e mantida em etanol.

Acoplamento do quimiossensor **2aZn(II) às NPSM (NM3)**

A uma solução de porfirina **2aZn(II)** (20,0 mg) em DMSO (1 mL) foi adicionada uma suspensão de NPSM (250 mg) em DMSO (4 mL). A mistura reacional foi mantida em agitação magnética a 160 °C e sob atmosfera de azoto. A reação foi monitorizada por TLC e ao fim de 24 horas verificou-se o consumo da porfirina de partida e da formação de um produto insolúvel de cor avermelhada, tendo-se assim terminado a reação. Filtrou-se o material por uma membrana, lavando-se muito bem com uma mistura de diclorometano/metanol até não se observar no solvente de lavagem a banda Soret correspondente a porfirina livre. O **NM3** foi re-suspenso em DMSO (25 mL), sendo esta suspensão usada como stock. A quantidade de porfirina que reagiu foi determinada por diferença entre a quantidade inicial adicionada e a quantidade determinada por UV-Vis presente no solvente de lavagem usando o ϵ da porfirina **2aZn(II)**.

6.4.5 Acoplamento do quimiossensor Pc 19 às NPSM (NM4)

A uma solução de ftalocianina **19** (25,0 mg) em DMSO (2 mL) foi adicionada uma suspensão de NPSM (250 mg) em DMSO (5 mL). A mistura reacional foi mantida em agitação magnética a 160 °C e sob atmosfera de azoto. A reação foi monitorizada por TLC e ao fim de 8 horas verificou-se o consumo total da ftalocianina de partida e da formação do produto insolúvel de cor verde, terminando-se assim a reação. Filtrou-se a mistura reacional por uma membrana, lavando-se muito bem com uma mistura THF/metanol até não se observar a banda Q no solvente de lavagem. O **NM4** foi re-suspenso em DMSO (25 mL), sendo esta suspensão usada como stock.

Acoplamento do quimiossensor **2aZn(II) às fibras óticas**

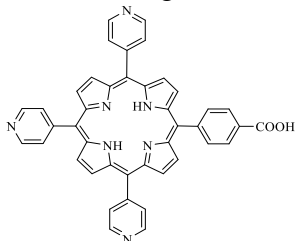
A uma solução de porfirina **2aZn(II)** (15,0 mg) em DMSO (1 mL) foi adicionado o MPTS (135 μ L, 2 equiv.) e 100 μ L de TEA e a mistura reacional foi mantida em agitação magnética a 40 °C, sob atmosfera de azoto, durante 12 horas. A reação foi monitorizada por TLC e ao fim de 12 horas, verificou-se o consumo da porfirina de partida e da formação do composto **23**. De seguida, num pequeno reator em forma de “T” foram adicionadas as fibras óticas revestidas com sílica ou as fibras óticas corroídas. A reação foi deixada a decorrer durante 48 horas a 40 °C. A reação com as fibras óticas revestidas foi também monitorizada pelo equipamento analisador ótico de redes (ONA). Findo este tempo as fibras óticas foram

lavadas varias vezes em DMSO, de seguida numa solução de diclorometano/metanol e por fim com uma solução de acetato de etilo.

6.5 Síntese de precursores para o DNA origami

Síntese da 5-(4-carboxifenil)-10,15,20-tris(4-piridil)porfirina (**24**)

A uma mistura de ácido acético glacial (200 mL) e nitrobenzeno (150 mL) em refluxo adicionou-se ácido 4-formilbenzoico (1,27 g, 8,46 mmol) e piridina-4-carbaldeído (2,00 mL, 20,9 mmol). Posteriormente foi adicionado o pirrol (2 mL, 28,9 mmol), gota a gota, com a ajuda de um funil de carga. A mistura foi refluxada durante 1 hora. Findo este tempo deixou-se arrefecer até à temperatura ambiente. Iniciou-se então a destilação a pressão reduzida do ácido acético glacial e do nitrobenzeno até à secura. O resíduo obtido foi retomado em diclorometano/metanol (85:15) e separado por cromatografia rápida de coluna usando como eluente diclorometano/metanol (85:15). Com este eluente obteve-se uma primeira fração que foi identificada como sendo a 5,10,15,20-tetraquis(4-piridil)porfirina. A segunda fração recolhida da coluna correspondeu à porfirina **24**. Após remoção do solvente a porfirina **24** foi recristalizada em diclorometano/metanol dando origem a cristais de cor roxa (250 mg, 6%).



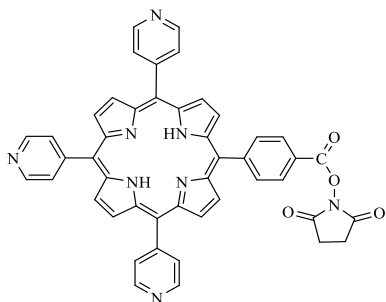
RMN ^1H (DMSO- d_6): -3,01 (s, 2H, NH), 8,27 (d, J = 5,8 Hz, 6H, Py-*o*-H), 8,33 (d, J = 8,3 Hz, 2H, 5-Ar-*o*-H), 8,39 (d, 2H, J = 8,3 Hz, 5-Ar-*m*-H), 8,90 (d, 8H, J = 3,6 Hz, β -H), 9,06 (d, 6H, J = 5,8 Hz, Py-*m*-H). **MS-MALDI** (m/z): 662,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Estes dados espectroscópicos estão de acordo com os presentes na literatura.²⁶⁹

Síntese da porfirina éster ativado (**25**)

A uma solução da porfirina **24** (51,0 mg, 77,1 μmol) em piridina seca (5 mL) adicionou-se, lentamente, cloreto de tionilo (100 μL , 1,37 mmol). A mistura foi agitada durante 30 minutos à temperatura ambiente, e protegida da humidade por um tubo de sílica gel. Uma vez formado o cloreto de acilo, confirmado por TLC, adicionou-se à mistura anterior *N*-hidroxi-succinimida (200 mg, 1,74 mmol), mantendo-a em agitação durante mais 3 horas a 50 °C. A piridina foi evaporada a pressão reduzida, e o resíduo sólido, depois de retomado em diclorometano, foi lavado com uma solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e após concentração a pressão reduzida,

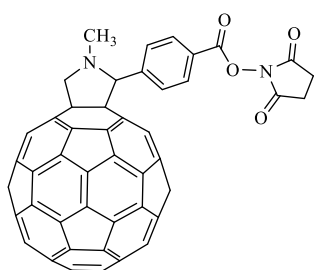
o produto foi cristalizado em diclorometano/hexano originando cristais vermelho escuro correspondendo à porfirina **25** (53,2 mg, 91%).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆): -3,03 (s, 2H, NH), 3,01 (s, 4H, CH₂), 8,28 (dd, *J*= 4,7 e 1,7 Hz, 6H, Py-*o*-H), 8,50 (d, *J*= 8,4 Hz, 2H, 5-Ar-*o*-H), 8,55 (d, *J*= 8,4 Hz, 2H, 5-Ar-*m*-H), 8,86-9,00 (m, 8H, β-H) 9,06 (dd, *J*= 4,7 e 1,7 Hz, 6H, Py-*m*-H). **MS MALDI** (*m/z*): 759,2 [M+H]⁺. Estes dados espectroscópicos estão de acordo com os presentes na literatura.²⁶⁹



Síntese do C₆₀ éster ativado (**27**)

Num balão de 25 mL dissolveu-se 30,0 mg de C₆₀ em 10 mL de tolueno com ajuda de ultrassons e temperatura durante 10 minutos. De seguida adicionou-se ácido 4-formilbenzoico (31,5 mg, 0,21 mmol) e *N*-metil glicina (10,4 mg, 0,1167 mmol) ao balão reacional e deixou-se reagir a refluxo durante 2 horas. Findo esse tempo, esperou-se que a mistura reacional atingisse a temperatura ambiente, adicionando de seguida SOCl₂ (0,2 mL) e a piridina seca (2 mL). Uma vez formado o cloreto de acilo, confirmado por TLC, adicionou-se à mistura anterior a *N*-hidroxi-succinimida (200 mg, 1,74 mmol), mantendo a reação em agitação durante mais 3 horas a 50 °C. A piridina e o tolueno foram depois evaporados a pressão reduzida, e o resíduo sólido foi retomado em tolueno e separado por cromatografia rápida de coluna. Usando como eluente tolueno/hexano (1:1) obteve-se a primeira fração que foi identificada como sendo o C₆₀ de partida. Com tolueno obteve-se a segunda fração correspondente ao éster ativado **27**. Após remoção do solvente o éster ativado **27** foi cristalizado em tolueno/hexano dando origem a cristais de cor cinza (12,5 mg, 35%).



RMN ¹H (CS₂/CDCl₃ 2:1): 2,81 (s, 3H, CH₃), 3,10 (s, 4H, succi-CH₂), 4,28 (dd, *J*= 9,5 Hz, 1H, CH), 4,97-5,00 (m, 2H, CH₂), 7,88 (d, *J*= 8,6 Hz, 2H, Ar-*o*-H), 8,07 (d, *J*= 8,6 Hz, 2H, Ar-*m*-H). **MS MALDI** (*m/z*): 995,47 [M+H]⁺.

Procedimento geral para a acoplamento dos precursores éster ativado da porfirina e C₆₀ aos OligoDNA

Num *eppendorf* foi adicionado 1 mg de éster ativado (≈ 1000 equiv.), 50 μL de OligoDNA (30 nmol) e 15 mg de KHCO_3 e 500 μL de DMF ou DMSO. Deixou-se a reagir durante 24 horas numa incubadora a 37 °C. A reação foi terminada por precipitação do éster ativado em excesso por adição de água destilada. De seguida a mistura era centrifugada e a fase aquosa recolhida. A fase aquosa era lavada com diclorometano para retirar algum éster, ou ácido que eventualmente se tenha formado, e que tenha ficado na fase aquosa. A fase aquosa foi concentrada numa centrifugadora SpeedVac a 50 °C até se obter um volume de ≈ 100 μL . Essa solução foi depois filtrada através de um filtro de 20 μm e de seguida a mistura reacional purificada por HPLC com uma coluna C₄, usando como eluentes uma solução tampão de formato de amónio e uma mistura de acetonitrilo/solução tampão (80/20), com o programa detalhado na tabela abaixo.

Tempo (min)	Linha A Solução tampão de formato de amónio (50 μM , pH= 7,2)	Linha B Acetonitrilo/Solução tampão A (80/20)	mL/min
0	95	5	1
5	95	5	1
50	5	95	1
51	0	100	1
55	0	100	1
60	95	5	1

Bibliografia Geral

Bibliografia Geral

- (1) Lindsey, J. S., *New J. Chem.*, **1991**, 15, 153.
- (2) Whitesides, G. M.; Mathias, J. P.; Seto, C. T., *Science*, **1991**, 254, 1312.
- (3) Lehn, J. M., "*Química Supramolecular: conceitos e perspectivas*", Calhorda, M. J., Delgado, R., Martins, A. M., Machado, V. G., Miranda, N., IST Press, Lisboa, **1996**.
- (4) Philp, D.; Stoddart, J. F., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1996**, 35, 1155.
- (5) Batten, S. R.; Robson, R., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, 37, 1460.
- (6) Lehn, J.-M., *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 151.
- (7) Hoeben, F. J. M.; Jonkheijm, P.; Meijer, E. W.; Schenning, A. P. H. J., *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 1491.
- (8) Holliday, B. J.; Mirkin, C. A., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 2022.
- (9) Swiegers, G. F.; Malefetse, T. J., *Chem. Rev.*, **2000**, 100, 3483.
- (10) Lehn, J. M., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1990**, 29, 1304.
- (11) Lehn, J. M., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1988**, 27, 89.
- (12) Beer, P. D.; Gale, P. A., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 486.
- (13) Rekharsky, M. V.; Inoue, Y., *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1875.
- (14) Schneider, H. J.; Hackett, F.; Rudiger, V.; Ikeda, H., *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1755.
- (15) Del Valle, E. M. M., *Process Biochem.*, **2004**, 39, 1033.
- (16) Jeon, W. S.; Moon, K.; Park, S. H.; Chun, H.; Ko, Y. H.; Lee, J. Y.; Lee, E. S.; Samal, S.; Selvapalam, N.; Rekharsky, M. V.; Sindelar, V.; Sobransingh, D.; Inoue, Y.; Kaifer, A. E.; Kim, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 12984.
- (17) Zhang, L.; Zhang, H.; Gao, F.; Peng, H.; Ruan, Y.; Xu, Y.; Weng, W., *RSC Adv.*, **2015**, 5, 12007.
- (18) Zhang, F.; Zhao, Y. Y.; Chen, H.; Wang, X. H.; Chen, Q.; He, P. G., *Chem. Commun.*, **2015**, 51, 6613.
- (19) Wu, Y.; Shi, R.; Wu, Y. L.; Holcroft, J. M.; Liu, Z.; Frasconi, M.; Wasielewski, M. R.; Li, H.; Stoddart, J. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137, 4111.
- (20) Alvarez-Dorta, D.; Leon, E. I.; Kennedy, A. R.; Martin, A.; Perez-Martin, I.; Suarez, E., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, 54, 3674.
- (21) Riela, S.; Arcudi, F.; Lazzara, G.; Lo Meo, P.; Guernelli, S.; D'Anna, F.; Milioto, S.; Noto, R., *Supramol. Chem.*, **2015**, 27, 233.

- (22) Zhao, J.; Zhang, Y. M.; Sun, H. L.; Chang, X. Y.; Liu, Y., *Chem. Eur. J.*, **2014**, *20*, 15108.
- (23) Shi, W. J.; Menting, R.; Ermilov, E. A.; Lo, P. C.; Roeder, B.; Ng, D. K. P., *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 5277.
- (24) Hamann, B. C.; Shimizu, K. D.; Rebek, J., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1996**, *35*, 1326.
- (25) Rebek, J., *Chem. Commun.*, **2000**, 637.
- (26) Yue, S.; Zhou, Y.; Yao, Y.; Xue, M., *Acta Chim. Sinica*, **2014**, *72*, 1053.
- (27) Yang, Y. W.; Sun, Y. L.; Song, N., *Acc. Chem. Res.*, **2014**, *47*, 1950.
- (28) Ulzii, M.; Rao, K. U. M.; Yamada, M.; Hamada, F., *Heterocycles*, **2014**, *89*, 2554.
- (29) Sawada, T.; Hisada, H.; Fujita, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, 4449.
- (30) Dong, S.; Zheng, B.; Wang, F.; Huang, F., *Acc. Chem. Res.*, **2014**, *47*, 1982.
- (31) Kim, K.; Selvapalam, N.; Oh, D. H., *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.*, **2004**, *50*, 31.
- (32) Marquez, C.; Huang, F.; Nau, W. M., *IEEE Trans. Nanobiosci.*, **2004**, *3*, 39.
- (33) Pluth, M. D.; Raymond, K. N., *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, *36*, 161.
- (34) Xiang, D. D.; Geng, Q. X.; Cong, H.; Tao, Z.; Yamato, T., *Supramol. Chem.*, **2015**, *27*, 37.
- (35) Wang, G.; Kang, Y.; Tang, B.; Zhang, X., *Langmuir*, **2015**, *31*, 120.
- (36) Ren, H.; Huang, Z.; Yang, H.; Xu, H.; Zhang, X., *ChemPhysChem*, **2015**, *16*, 523.
- (37) Liu, Q.; Tang, Q.; Xi, Y. Y.; Huang, Y.; Xiao, X.; Tao, Z.; Xue, S. F.; Zhu, Q. J.; Zhang, J. X.; Wei, G., *Supramol. Chem.*, **2015**, *27*, 386.
- (38) Fileti, E.; Colherinhas, G.; Malaspina, T., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2014**, *16*, 22823.
- (39) Menting, R.; Ng, D. K. P.; Roeder, B.; Ermilov, E. A., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2012**, *14*, 14573.
- (40) Sun, D. Y.; Tham, F. S.; Reed, C. A.; Chaker, L.; Burgess, M.; Boyd, P. D. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 10704.
- (41) Wang, Y. B.; Lin, Z. Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 6072.
- (42) Huang, X. F.; Borhan, B.; Rickman, B. H.; Nakanishi, K.; Berova, N., *Chem. Eur. J.*, **2000**, *6*, 216.
- (43) Kubo, Y.; Sugasaki, A.; Ikeda, M.; Sugiyasu, K.; Sonoda, K.; Ikeda, A.; Takeuchi, M.; Shinkai, S., *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 925.
- (44) Leng, X.; Choi, C.-F.; Lo, P.-C.; Ng, D. K. P., *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 231.

- (45) Ward, M. D.; Raithby, P. R., *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, 42, 1619.
- (46) Nakamura, T.; Ube, H.; Shionoya, M., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, 12096.
- (47) Le Ho, K. H.; Hijazi, I.; Rivier, L.; Gautier, C.; Joussetme, B.; de Miguel, G.; Romero-Nieto, C.; Guldi, D. M.; Heinrich, B.; Donnio, B.; Campidelli, S., *Chem. Eur. J.*, **2013**, 19, 11374.
- (48) Ermilov, E. A.; Leng, X.; Roeder, B.; Ng, D. K. P., *New J. Chem.*, **2013**, 37, 1746.
- (49) Ray, A.; Goswami, D.; Chattopadhyay, S.; Bhattacharya, S., *J. Phys. Chem. A*, **2008**, 112, 11627.
- (50) Reinhoudt, D. N.; Vandoorn, A. R.; Verboom, W., *J. Coord. Chem.*, **1992**, 27, 91.
- (51) Gokel, G. W.; Leevy, W. M.; Weber, M. E., *Chem. Rev.*, **2004**, 104, 2723.
- (52) Kuhn, R.; Erni, F.; Bereuter, T.; Hausler, J., *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 2815.
- (53) Corma, A.; Garcia, H., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2004**, 1143.
- (54) Calzaferri, G.; Huber, S.; Maas, H.; Minkowski, C., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 3732.
- (55) Tanaka, K.; Ohta, K.; Fritz, J. S.; Matsushita, S.; Miyanaga, A., *J. Chromatogr. A*, **1994**, 671, 239.
- (56) Gorden, A. E. V.; Davis, J.; Sessler, J. L.; Kral, V.; Keogh, D. W.; Schroeder, N. L., *Supramol. Chem.*, **2004**, 16, 91.
- (57) McKee, V.; Nelson, J.; Town, R. M., *Chem. Soc. Rev.*, **2003**, 32, 309.
- (58) Prados, P.; Quesada, R., *Supramol. Chem.*, **2008**, 20, 201.
- (59) Gale, P. A., *Coord. Chem. Rev.*, **2003**, 240, 191.
- (60) Hirsch, A. K. H.; Fischer, F. R.; Diederich, F., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 338.
- (61) Kim, S. K.; Kim, H. N.; Xiaoru, Z.; Lee, H. N.; Lee, H. N.; Soh, J. H.; Swamyand, K. M. K.; Yoon, J., *Supramol. Chem.*, **2007**, 19, 221.
- (62) Lee, C. H.; Miyaji, H.; Yoon, D. W.; Sessler, J. L., *Chem. Commun.*, **2008**, 24.
- (63) Devuyst, O.; Christie, P. T.; Courtoy, P. J.; Beauwens, R.; Thakker, R. V., *Hum. Mol. Genet.*, **1999**, 8, 247.
- (64) Rutishauser, J.; Kopp, P., *Eur. J. Endocrinol.*, **1998**, 138, 623.
- (65) Caltagirone, C.; Gale, P. A., *Chem. Soc. Rev.*, **2009**, 38, 520.
- (66) Kubik, S.; Reyheller, C.; Stüwe, S., *J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.*, **2005**, 52, 137.
- (67) Rambo, B. M.; Sessler, J. L., *Chem. Eur. J.*, **2011**, 17, 4946.

- (68) Kim, H. J.; Lee, H.; Lee, J. H.; Choi, D. H.; Jung, J. H.; Kim, J. S., *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 10918.
- (69) Farinha, A. S. F.; Tome, A. C.; Cavaleiro, J. A. S., *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 2184.
- (70) Caltagirone, C.; Bates, G. W.; Gale, P. A.; Light, M. E., *Chem. Commun.*, **2008**, 61.
- (71) Hiscock, J. R.; Gale, P. A.; Caltagirone, C.; Hursthouse, M. B.; Light, M. E., *Supramol. Chem.*, **2010**, 22, 647.
- (72) Kim, S. K.; Sessler, J. L., *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 3784.
- (73) Kubik, S., *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 3648.
- (74) Byrne, P.; Lloyd, G. O.; Clarke, N.; Steed, J. W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 5761.
- (75) Wenzel, M.; Hiscock, J. R.; Gale, P. A., *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 480.
- (76) Gunnlaugsson, T.; Glynn, M.; Tocci, G. M.; Kruger, P. E.; Pfeffer, F. M., *Chem. Soc. Rev.*, **2006**, 250, 3094.
- (77) Valente, N. I. P.; Muteto, P. V.; Farinha, A. S. F.; Tome, A. C.; Oliveira, J. A. B. P.; Gomes, M. T. S. R., *Sens. Actuators, B*, **2011**, 157, 594.
- (78) Rodrigues, J. M. M.; Farinha, A. S. F.; Muteto, P. V.; Woranovicz-Barreira, S. M.; Paz, F. A. A.; Neves, M.; Cavaleiro, J. A. S.; Tome, A. C.; Gomes, M.; Sessler, J. L.; Tome, J. P. C., *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 1359.
- (79) Zimmermann-Dimer, L. M.; Machado, V. G., *Quim. Nova*, **2008**, 31, 2134.
- (80) Pedersen, C. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 7017.
- (81) Park, C. H.; Simmons, H. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, 90, 2431.
- (82) Graf, E.; Lehn, J. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, 97, 5022.
- (83) Graf, E.; Lehn, J. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 6403.
- (84) Metz, B.; Rosalky, J. M.; Weiss, R., *J. C. S. Chem. Comm.*, **1976**, 533.
- (85) Suksai, C.; Tuntulani, T., *Chem. Soc. Rev.*, **2003**, 32, 192.
- (86) Gale, P. A.; Sessler, J. L.; Kral, V.; Lynch, V., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 5140.
- (87) Gale, P. A.; Twyman, L. J.; Handlin, C. I.; Sessler, J. L., *Chem. Commun.*, **1999**, 1851.
- (88) Nielsen, K. A.; Sarova, G. H.; Martin-Gomis, L.; Fernandez-Lazaro, F.; Stein, P. C.; Sanguinet, L.; Levillain, E.; Sessler, J. L.; Guldi, D. M.; Sastre-Santos, A.; Jeppesen, J. O., *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 460.
- (89) Miyaji, H.; Sato, W.; Sessler, J. L., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 1777.

- (90) Chang, K. C.; Minami, T.; Koutnik, P.; Savechenkov, P. Y.; Liu, Y.; Anzenbacher, P., *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, 1520.
- (91) Mahanta, S. P.; Panda, P. K., *Org. Biomol. Chem.*, **2014**, *12*, 278.
- (92) Jagessar, R. C.; Shang, M. Y.; Scheidt, W. R.; Burns, D. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 11684.
- (93) Bill, N. L.; Ishida, M.; Bahring, S.; Lim, J. M.; Lee, S.; Davis, C. M.; Lynch, V. M.; Nielsen, K. A.; Jeppesen, J. O.; Ohkubo, K.; Fukuzumi, S.; Kim, D.; Sessler, J. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, 10852.
- (94) Gilday, L. C.; White, N. G.; Beer, P. D., *Dalton Trans.*, **2013**, *42*, 15766.
- (95) Farinha, A. S. F.; Calvete, M. J. F.; Paz, F. A. A.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Sessler, J. L.; Tomé, J. P. C., *Sens. Actuators, B*, **2014**, *201*, 387.
- (96) Gupta, I.; Froehlich, R.; Ravikanth, M., *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 1884.
- (97) Sessler, J. L.; Camiolo, S.; Gale, P. A., *Coord. Chem. Rev.*, **2003**, *240*, 17.
- (98) Kruk, M. M.; Starukhin, A. S.; Mamardashvili, N. Z.; Mamardashvili, G. M.; Ivanova, Y. B.; Maltseva, O. V., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2009**, *13*, 1148.
- (99) Sheinin, V. B.; Ratkova, E. L.; Mamardashvili, N. Z., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2008**, *12*, 1211.
- (100) Sessler, J. L.; Davis, J. M., *Acc. Chem. Res.*, **2001**, *34*, 989.
- (101) Milgrom, L. M., "The colours of life: An introduction to the chemistry of porphyrins and related compounds" Oxford University Press, Oxford, **1997**.
- (102) Moss, G. P., *Pure Appl. Chem.*, **1987**, *59*, 779.
- (103) Groves, J. T., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2000**, *4*, 350.
- (104) Stromberg, J. R.; Marton, A.; Kee, H. L.; Kirmaier, C.; Diers, J. R.; Muthiah, C.; Taniguchi, M.; Lindsey, J. S.; Bocian, D. F.; Meyer, G. J.; Holten, D., *J. Phys. Chem. C*, **2007**, *111*, 15464.
- (105) Sasaki, S.; Tamiaki, H., *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 2648.
- (106) Merritt, J. E.; Loening, K. L., *Pure Appl. Chem.*, **1979**, *51*, 2251.
- (107) Jaquinod, L., "Synthesis and Organic Chemistry", In "The Porphyrin Handbook", Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; Academic Press: San Diego, **2000**; Vol. 1, p 201.
- (108) Rothemund, P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, *57*, 2010.
- (109) Rothemund, P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1936**, *58*, 625.

- (110) Adler, A. D.; Longo, F. R.; Finarell.Jd; Goldmach.J; Assour, J.; Korsakof.L, *J. Org. Chem.*, **1967**, 32, 476.
- (111) Smith, K. M., "Synthesis and Organic Chemistry", In "*The Porphyrin Handbook*", Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; Academic Press: San Diego, **2000**; Vol. 1, p 10.
- (112) Gonsalves, A. M. D. R.; Pereira, M. M., *J. Heterocycl. Chem.*, **1985**, 22, 931.
- (113) Lindsey, J. S.; Hsu, H. C.; Schreiman, I. C., *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 4969.
- (114) Gonsalves, A. M. A. R.; Varejao, J. M. T. B.; Pereira, M. M., *J. Heterocycl. Chem.*, **1991**, 28, 635.
- (115) Sharman, W. M.; van Lier, J. E., "Synthesis of Phthalocyanine Precursors", In "*The Porphyrin Handbook: Phthalocyanines Synthesis*", Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; World Scientific: **2003**; Vol. 15, p 83.
- (116) Petit, A.; Loupy, A.; Maillard, P.; Momenteau, M., *Synth. Commun.*, **1992**, 22, 1137.
- (117) De Paula, R.; Faustino, M. A. F.; Pinto, D. C. G. A.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S., *J. Heterocycl. Chem.*, **2008**, 45, 453.
- (118) Laszlo, P.; Luchetti, J., *Chem. Lett.*, **1993**, 449.
- (119) Little, R. G.; Anton, J. A.; Loach, P. A.; Ibers, J. A., *J. Heterocycl. Chem.*, **1975**, 12, 343.
- (120) Lee, C. H.; Lindsey, J. S., *Tetrahedron*, **1994**, 50, 11427.
- (121) Littler, B. J.; Ciringh, Y.; Lindsey, J. S., *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 2864.
- (122) Ryppa, C.; Senge, M. O.; Hatscher, S. S.; Kleinpeter, E.; Wacker, P.; Schilde, U.; Wiehe, A., *Chem. Eur. J.*, **2005**, 11, 3427.
- (123) Narayanan, S. J.; Sridevi, B.; Srinivasan, A.; Chandrashekar, T. K.; Roy, R., *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 7389.
- (124) Nielsen, K. A.; Cho, W. S.; Lyskawa, J.; Levillain, E.; Lynch, V. M.; Sessler, J. L.; Jeppesen, J. O., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 2444.
- (125) Allison, R. R.; Mota, H. C.; Sibata, C. H., *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2004**, 1, 263.
- (126) Cavaleiro, J. A. S.; Neves, M. G. P. M. S.; Tome, A. C.; Silva, A. M. S.; Faustino, M. A. F.; Lacerda, P. S.; Silva, A. M. G., *J. Heterocycl. Chem.*, **2000**, 37, 527.
- (127) Serra, V. V.; Zamarron, A.; Faustino, M. A. F.; Iglesias-de la Cruz, M. C.; Blazquez, A.; Rodrigues, J. M. M.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Juarranz, A.; Sanz-Rodriguez, F., *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, 18, 6170.

- (128) Mittra, R. A.; Singerman, L. J., *Optom Vis Sci*, **2002**, 79, 218.
- (129) Kulkarni, A. D.; Kuppermann, B. D., *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2005**, 57, 1994.
- (130) Pires, S. M. G.; De Paula, R.; Simoes, M. M. Q.; Neves, M. G. P. M. S.; Santos, I. C. M. S.; Tome, A. C.; Cavaleiro, J. A. S., *Catal. Commun.*, **2009**, 11, 24.
- (131) Rebelo, S. L. H.; Pereira, M. M.; Simoes, M. M. Q.; Neves, M.; Cavaleiro, J. A. S., *J. Catal.*, **2005**, 234, 76.
- (132) Pedersen, T. G.; Lynge, T. B.; Kristensen, P. K.; Johansen, P. M., *Thin Solid Films*, **2005**, 477, 182.
- (133) Campbell, W. M.; Burrell, A. K.; Officer, D. L.; Jolley, K. W., *Coord. Chem. Rev.*, **2004**, 248, 1363.
- (134) Hasselman, G. M.; Watson, D. F.; Stromberg, J. R.; Bocian, D. F.; Holten, D.; Lindsey, J. S.; Meyer, G. J., *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 25430.
- (135) Calvete, M.; Yang, G. Y.; Hanack, M., *Synth. Met.*, **2004**, 141, 231.
- (136) Vzorov, A. N.; Dixon, D. W.; Trommel, J. S.; Marzilli, L. G.; Compans, R. W., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2002**, 46, 3917.
- (137) Costa, D. C. S.; Gomes, M. C.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Cunha, A.; Cavaleiro, J. A. S.; Almeida, A.; Tome, J. P. C., *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2012**, 11, 1905.
- (138) Gomes, M. C.; Silva, S.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Almeida, A.; Cavaleiro, J. A. S.; Tome, J. P. C.; Cunha, A., *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2013**, 12, 262.
- (139) Iwata, S.; Suzuki, M.; Shirakawa, M.; Tanaka, K., *Supramol. Chem.*, **1999**, 11, 135.
- (140) Starnes, S. D.; Arungundram, S.; Saunders, C. H., *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 7785.
- (141) Zhang, J.; Li, Y.; Yang, W.; Lai, S.-W.; Zhou, C.; Liu, H.; Che, C.-M.; Li, Y., *Chem. Commun.*, **2012**, 48, 3602.
- (142) Kumar, R.; Chaudhri, N.; Sankar, M., *Dalton Trans.*, **2015**, 44, 9149.
- (143) Erk, P.; Hengelsberg, H., "Phthalocyanine Dyes and Pigments", In "The Porphyrin Handbook: Applications of Phthalocyanines", Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; World Scientific: **2006**; Vol. 19, p 105.
- (144) Pereira, J. B.; Carvalho, E. F. A.; Faustino, M. A. F.; Fernandes, R.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Gomes, N. C. M.; Cunha, A.; Almeida, A.; Tome, J. P. C., *Photochem. Photobiol.*, **2012**, 88, 537.
- (145) Cakir, D.; Goksel, M.; Cakir, V.; Durmus, M.; Biyiklioglu, Z.; Kantekin, H., *Dalton Trans.*, **2015**, 44, 9646.

- (146) Jin, Y.; Zhang, X.; Zhang, B.; Kang, H.; Du, L.; Li, M., *Colloids Surf., B*, **2015**, *128*, 405.
- (147) Li, X. S.; Ke, M. R.; Zhang, M. F.; Tang, Q. Q.; Zheng, B. Y.; Huang, J. D., *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 4704.
- (148) Pan, X.; Xie, J.; Li, Z.; Chen, M.; Wang, M.; Wang, P. N.; Chen, L.; Mi, L., *Colloids Surf., B*, **2015**, *130*, 292.
- (149) Senna, J. P.; Ricci-Junior, E.; Mansur, C. R. E., *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **2015**, *15*, 4205.
- (150) Kaliya, O. L.; Lukyanets, E. A.; Vorozhtsov, G. N., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **1999**, *3*, 592.
- (151) Khoza, P.; Nyokong, T., *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2015**, *399*, 25.
- (152) Osati, S.; Ali, H.; van Lier, J. E., *Tetrahedron Lett.*, **2015**, *56*, 2049.
- (153) Sun, X.; Wang, L.; Tan, Z., *Catal. Lett.*, **2015**, *145*, 1094.
- (154) Zhao, N.; Li, S.; Wang, J.; Zhang, R.; Gao, R.; Zhao, J.; Wang, J., *J. Solid State Chem.*, **2015**, *225*, 347.
- (155) Peumans, P.; Uchida, S.; Forrest, S. R., *Nature*, **2003**, *425*, 158.
- (156) Torre, G. D. L.; Claessens, C. G.; Torres, T., *Chem. Commun.*, **2007**, 2000.
- (157) Lin, L.; Peng, B.; Shi, W.; Guo, Y.; Li, R., *Dalton Trans.*, **2015**, *44*, 5867.
- (158) Yan, X.; Fan, H.; Gu, H.; Zhang, J.; Huang, X.; Zhang, R.; Zhan, X., *Dyes Pigm.*, **2015**, *114*, 124.
- (159) Lessard, B. H.; Al-Amar, M.; Grant, T. M.; White, R.; Lu, Z. H.; Bender, T. P., *J. Mater. Chem. A*, **2015**, *3*, 5047.
- (160) Zhu, B.; Zhang, X.; Han, M.; Deng, P.; Li, Q., *J. Mol. Struct.*, **2015**, *1079*, 61.
- (161) Gershenson, M. E.; Podzorov, V.; Morpurgo, A. F., *Rev. Mod. Phys.*, **2006**, *78*, 973.
- (162) Hanada, T.; Takiguchi, H.; Okada, Y.; Yoshida, Y.; Tanigaki, N.; Yase, K., *J. Cryst. Growth*, **1999**, *204*, 307.
- (163) Zhou, R.; Josse, F.; Gopel, W.; Ozturk, Z. Z.; Bekaroglu, O., *Appl. Organomet. Chem.*, **1996**, *10*, 557.
- (164) Guillaud, G.; Simon, J.; Germain, J. P., *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, *178*, 1433.
- (165) Wang, H.; Bu, Y.; Dai, W.; Li, K.; Wang, H.; Zuo, X., *Sens. Actuators, B*, **2015**, *216*, 298.

- (166) Kumawat, L. K.; Mergu, N.; Singh, A. K.; Gupta, V. K., *Sens. Actuators, B*, **2015**, 212, 389.
- (167) Kumar, A.; Brunet, J.; Varenne, C.; Ndiaye, A.; Pauly, A.; Penza, M.; Alvisi, M., *Sens. Actuators, B*, **2015**, 210, 398.
- (168) Ipek, Y.; Sener, M. K.; Koca, A., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2015**, 19, 708.
- (169) de la Torre, G.; Vazquez, P.; Agullo-Lopez, F.; Torres, T., *J. Mater. Chem.*, **1998**, 8, 1671.
- (170) de la Torre, G.; Vaquez, P.; Agullo-Lopez, F.; Torres, T., *Chem. Rev.*, **2004**, 104, 3723.
- (171) Oliver, S. W.; Smith, T. D., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1987**, 1579.
- (172) Caglar, Y.; Gumrukcuoglu, N.; Saka, E. T.; Ocak, M.; Kantekin, H.; Ocak, U., *J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.*, **2012**, 72, 443.
- (173) Kandaz, M.; Guney, O.; Senkal, F. B., *Polyhedron*, **2009**, 28, 3110.
- (174) Liu, X.; Qi, C.; Bing, T.; Cheng, X.; Shangguan, D., *Anal. Chem.*, **2009**, 81, 3699.
- (175) Sevim, M.; Yarasir, M. N.; Koca, A.; Kandaz, M., *Dyes Pigm.*, **2014**, 111, 190.
- (176) Altun, S.; Orman, E. B.; Odabas, Z.; Altindal, A.; Ozkaya, A. R., *Dalton Trans.*, **2015**, 44, 4341.
- (177) Kaki, E.; Altindal, A.; Salih, B.; Bekaroglu, O., *Dalton Trans.*, **2015**, 44, 8293.
- (178) Bal, A. K., *J. Electron. Mater.*, **2015**, 44, 144.
- (179) Regmi, B. P.; Galpothdeniya, W. I. S.; Siraj, N.; Webb, M. H.; Speller, N. C.; Warner, I. M., *Sens. Actuators, B*, **2015**, 209, 172.
- (180) Jha, P.; Sharma, M.; Chouksey, A.; Chaturvedi, P.; Kumar, D. K.; Upadhyaya, G.; Rawat, J. S. B. S.; Chaudhury, P. K., *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.*, **2014**, 44, 1551.
- (181) Beer, P. D.; Drew, M. G. B.; Jagessar, R., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1997**, 881.
- (182) Costa, J. I. T.; Tome, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2011**, 15, 1116.
- (183) Samaroo, D.; Soll, C. E.; Todaro, L. J.; Drain, C. M., *Org. Lett.*, **2006**, 8, 4985.
- (184) Littler, B. J.; Miller, M. A.; Hung, C. H.; Wagner, R. W.; O'Shea, D. F.; Boyle, P. D.; Lindsey, J. S., *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 1391.
- (185) Dimagno, S. G.; Lin, V. S. Y.; Therien, M. J., *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 5983.
- (186) Bruckner, C.; Posakony, J. J.; Johnson, C. K.; Boyle, R. W.; James, B. R.; Dolphin, D., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **1998**, 2, 455.

- (187) Connors, K. A., "*Binding Constants: The Measurement of Molecular Complex Stability*", New York: Wiley & Sons ed., **1987**.
- (188) Farinha, A. S. F., "*Calix[4]pirróis - Síntese e aplicação como sensores de aniões*" Universidade de Aveiro, 2010.
- (189) Parthiban, C.; Elango, K. P., *Sens. Actuators, B*, **2015**, 215, 544.
- (190) Piepenbrock, M.-O. M.; Lloyd, G. O.; Clarke, N.; Steed, J. W., *Chem. Rev.*, **2010**, 110, 1960.
- (191) Lee, M.-H.; Thomas, J. L.; Ho, M.-H.; Yuan, C.; Lin, H.-Y., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2010**, 2, 1729.
- (192) Singhal, R.; Bhattacharyya, S.; Orynbayeva, Z.; Vitol, E.; Friedman, G.; Gogotsi, Y., *Nanotechnology*, **2010**, 21.
- (193) El-Boubbou, K.; Zhu, D. C.; Vasileiou, C.; Borhan, B.; Prosperi, D.; Li, W.; Huang, X., *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132, 4490.
- (194) Hua, M.-Y.; Yang, H.-W.; Chuang, C.-K.; Tsai, R.-Y.; Chen, W.-J.; Chuang, K.-L.; Chang, Y.-H.; Chuang, H.-C.; Pang, S.-T., *Biomaterials*, **2010**, 31, 7355.
- (195) Losic, D.; Yu, Y.; Aw, M. S.; Simovic, S.; Thierry, B.; Addai-Mensah, J., *Chem. Commun.*, **2010**, 46, 6323.
- (196) Xie, W.; Ma, N., *Biomass Bioenergy*, **2010**, 34, 890.
- (197) Hahn, Y. K.; Jin, Z.; Kang, J. H.; Oh, E.; Han, M.-K.; Kim, H.-S.; Jang, J.-T.; Lee, J.-H.; Cheon, J.; Kim, S. H.; Park, H.-S.; Park, J.-K., *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 2214.
- (198) Simeonidis, K.; Kaprara, E.; Samaras, T.; Angelakeris, M.; Pliatsikas, N.; Vourlias, G.; Mitrakas, M.; Andritsos, N., *Sci. Total Environ.*, **2015**, 535, 61.
- (199) Yu, L.; Hao, G.; Gu, J.; Zhou, S.; Zhang, N.; Jiang, W., *J. Magn. Magn. Mater.*, **2015**, 394, 14.
- (200) Theron, J.; Walker, J. A.; Cloete, T. E., *Crit. Rev. Microbiol.*, **2008**, 34, 43.
- (201) Brar, S. K.; Verma, M.; Tyagi, R. D.; Surampalli, R. Y., *Waste Manage.*, **2010**, 30, 504.
- (202) Figueira, F.; Cavaleiro, J. A. S.; Tome, J. P. C., *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2011**, 15, 517.
- (203) Trewyn, B. G.; Slowing, I. I.; Giri, S.; Chen, H.-T.; Lin, V. S. Y., *Acc. Chem. Res.*, **2007**, 40, 846.

- (204) Pankhurst, Q. A.; Connolly, J.; Jones, S. K.; Dobson, J., *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2003**, 36, R167.
- (205) Frey, N. A.; Peng, S.; Cheng, K.; Sun, S., *Chem. Soc. Rev.*, **2009**, 38, 2532.
- (206) Lu, A.-H.; Salabas, E. L.; Schueth, F., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 1222.
- (207) Beker, U.; Cumbal, L.; Duranoglu, D.; Kucuk, I.; Sengupta, A. K., *Environ. Geochem. Health*, **2010**, 32, 291.
- (208) Afkhami, A.; Norooz-Asl, R., *Colloids Surf., A*, **2009**, 346, 52.
- (209) Carvalho, C. M. B.; Alves, E.; Costa, L.; Tome, J. P. C.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tome, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Almeida, A.; Cunha, A.; Lin, Z.; Rocha, J., *ACS Nano*, **2010**, 4, 7133.
- (210) Alves, E.; Rodrigues, J. M. M.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Lin, Z.; Cunha, A.; Nadais, M. H.; Tome, J. P. C.; Almeida, A., *Dyes Pigm.*, **2014**, 110, 80.
- (211) Beer, P. D.; Cormode, D. P.; Davis, J. J., *Chem. Commun.*, **2004**, 414.
- (212) Maguis, S.; Laffont, G.; Ferdinand, P.; Carbonnier, B.; Kham, K.; Mekhalif, T.; Millot, M.-C., *Opt. Express*, **2008**, 16, 19049.
- (213) Tierney, S.; Falch, B. M. H.; Hjelme, D. R.; Stokke, B. T., *Anal. Chem.*, **2009**, 81, 3630.
- (214) Jensen, J. B.; Hoiby, P. E.; Emiliyanov, G.; Bang, O.; Pedersen, L. H.; Bjarklev, A., *Opt. Express*, **2005**, 13, 5883.
- (215) Abel, A. P.; Weller, M. G.; Duveneck, G. L.; Ehrat, M.; Widmer, H. M., *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 2905.
- (216) Piunno, P. A. E.; Krull, U. J.; Hudson, R. H. E.; Damha, M. J.; Cohen, H., *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 2635.
- (217) Masuzawa, S.; Okazaki, S.; Maru, Y.; Mizutani, T., *Sens. Actuators, B*, **2015**, 217, 151.
- (218) Bhatta, D.; Stadden, E.; Hashem, E.; Sparrow, I. J. G.; Emmerson, G. D., *Sens. Actuators, B*, **2010**, 149, 233.
- (219) Martan, T.; Aubrecht, J.; Podrazky, O.; Matejec, V.; Kasik, I., *Sens. Actuators, B*, **2014**, 202, 123.
- (220) Chu, F.; Tsiminis, G.; Spooner, N. A.; Monro, T. M., *Sens. Actuators, B*, **2014**, 199, 22.

- (221) Marazuela, M. D.; Moreno-Bondi, M. C., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2002**, 372, 664.
- (222) Rao, Y. J., *Opt. Lasers Eng.*, **1999**, 31, 297.
- (223) Lee, B., *Opt. Fiber Technol.*, **2003**, 9, 57.
- (224) Jasion, G. T.; Shrimpton, J. S.; Chen, Y.; Bradley, T.; Richardson, D. J.; Poletti, F., *Opt. Express*, **2015**, 23, 312.
- (225) Davies, E.; Christodoulides, P.; Florides, G.; Kalli, K., *Materials*, **2014**, 7, 7566.
- (226) Sonnenfeld, C.; Sulejmani, S.; Geernaert, T.; Eve, S.; Lammens, N.; Luyckx, G.; Voet, E.; Degrieck, J.; Urbanczyk, W.; Mergo, P.; Becker, M.; Bartelt, H.; Berghmans, F.; Thienpont, H., *Sensors*, **2011**, 11, 2566.
- (227) Rovati, L.; Fabbri, P.; Ferrari, L.; Pilati, F., *Rev. Sci. Instrum.*, **2011**, 82.
- (228) Melo, L. B.; Rodrigues, J. M. M.; Farinha, A. S. F.; Marques, C. A.; Bilro, L.; Alberto, N.; Tome, J. P. C.; Nogueira, R. N., *Opt. Fiber Technol.*, **2014**, 20, 422.
- (229) Pilla, P.; Malachovska, V.; Borriello, A.; Buosciolo, A.; Giordano, M.; Ambrosio, L.; Cutolo, A.; Cusano, A., *Opt. Express*, **2011**, 19, 512.
- (230) Bhushan, B., "*Handbook of Nanotechnology*" Springer, **2010**.
- (231) Kuzuya, A.; Sakai, Y.; Yamazaki, T.; Xu, Y.; Komiyama, M., *Nat. Commun.*, **2011**, 2.
- (232) Jungmann, R.; Scheible, M.; Simmel, F. C., *WIREs Nanomed. Nanobiotechnol.*, **2012**, 4, 66.
- (233) Rothemund, P. W. K., *Nature*, **2006**, 440, 297.
- (234) Douglas, S. M.; Chou, J. J.; Shih, W. M., *PNAS*, **2007**, 104, 6644.
- (235) Sacca, B.; Meyer, R.; Erkelenz, M.; Kiko, K.; Arndt, A.; Schroeder, H.; Rabe, K. S.; Niemeyer, C. M., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49, 9378.
- (236) Sharma, J.; Chhabra, R.; Andersen, C. S.; Gothelf, K. V.; Yan, H.; Liu, Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 7820.
- (237) Stearns, L. A.; Chhabra, R.; Sharma, J.; Liu, Y.; Petuskey, W. T.; Yan, H.; Chaput, J. C., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, 48, 8494.
- (238) Kuzyk, A.; Laitinen, K. T.; Torma, P., *Nanotechnology*, **2009**, 20.
- (239) Shen, W.; Zhong, H.; Neff, D.; Norton, M. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 6660.
- (240) Kuzuya, A.; Kimura, M.; Numajiri, K.; Koshi, N.; Ohnishi, T.; Okada, F.; Komiyama, M., *Chembiochem*, **2009**, 10, 1811.

- (241) Bui, H.; Onodera, C.; Kidwell, C.; Tan, Y.; Graugnard, E.; Kuang, W.; Lee, J.; Knowlton, W. B.; Yurke, B.; Hughes, W. L., *Nano Lett.*, **2010**, *10*, 3367.
- (242) Pal, S.; Deng, Z.; Ding, B.; Yan, H.; Liu, Y., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 2700.
- (243) Steinhauer, C.; Jungmann, R.; Sobey, T. L.; Simmel, F. C.; Tinnefeld, P., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 8870.
- (244) Varghese, R.; Wagenknecht, H. A., *Chem. Commun.*, **2009**, 2615.
- (245) Teo, Y. N.; Wilson, J. N.; Kool, E. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 3923.
- (246) Genereux, J. C.; Barton, J. K., *Chem. Rev.*, **2010**, *110*, 1642.
- (247) Pinheiro, A. V.; Han, D.; Shih, W. M.; Yan, H., *Nat. Nanotechnol.*, **2011**, *6*, 763.
- (248) Kuzuya, A.; Komiyama, M., *Chem. Commun.*, **2009**, 4182.
- (249) Linko, V.; Ora, A.; Kostianen, M. A., *Trends Biotechnol.*, **2015**, *33*, 586.
- (250) Jiang, Q.; Song, C.; Nangreave, J.; Liu, X.; Lin, L.; Qiu, D.; Wang, Z.-G.; Zou, G.; Liang, X.; Yan, H.; Ding, B., *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 13396.
- (251) Li, J.; Fan, C.; Pei, H.; Shi, J.; Huang, Q., *Adv. Mater.*, **2013**, *25*, 4386.
- (252) Cassinelli, V.; Oberleitner, B.; Sobotta, J.; Nickels, P.; Grossi, G.; Kempter, S.; Frischmuth, T.; Liedl, T.; Manetto, A., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, *54*, 7795.
- (253) Jiang, Z.; Zhang, S.; Yang, C.; Kjems, J.; Huang, Y.; Besenbacher, F.; Dong, M., *Nano Res.*, **2015**, *8*, 2170.
- (254) Guldi, D. M., *Pure Appl. Chem.*, **2003**, *75*, 1069.
- (255) Kodis, G.; Liddell, P. A.; de la Garza, L.; Clausen, P. C.; Lindsey, J. S.; Moore, A. L.; Moore, T. A.; Gust, D., *J. Phys. Chem. A*, **2002**, *106*, 2036.
- (256) Kratschmer, W.; Huffman, D. R., *Carbon*, **1992**, *30*, 1143.
- (257) Vail, S. A.; Tome, J. P. C.; Krawczuk, P. J.; Dourandin, A.; Shafirovich, V.; Cavaleiro, J. A. S.; Schuster, D. I., *J. Phys. Org. Chem.*, **2004**, *17*, 814.
- (258) Vail, S. A.; Krawczuk, P. J.; Guldi, D. M.; Palkar, A.; Echegoyen, L.; Tome, J. P. C.; Fazio, M. A.; Schuster, D. I., *Chem. Eur. J.*, **2005**, *11*, 3375.
- (259) Enes, R. F.; Cid, J. J.; Hausmann, A.; Trukhina, O.; Gouloumis, A.; Vazquez, P.; Cavaleiro, J. A. S.; Tome, A. C.; Guldi, D. M.; Torres, T., *Chem. Eur. J.*, **2012**, *18*, 1727.
- (260) Pereira, A. M. V. M.; Hausmann, A.; Tome, J. P. C.; Trukhina, O.; Urbani, M.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Guldi, D. M.; Torres, T., *Chem. Eur. J.*, **2012**, *18*, 3210.
- (261) Schuster, D. I.; Loa, K.; Guldi, D. M.; Palkar, A.; Echegoyen, L.; Stanisky, C.; Cross, R. J.; Niemi, M.; Tkachenko, N. V.; Lemmetyinen, H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 15973.

- (262) Vail, S. A.; Schuster, D. I.; Guldi, D. M.; Isosomppi, M.; Tkachenko, N.; Lemmetyinen, H.; Palkar, A.; Echegoyen, L.; Chen, X.; Zhang, J. Z. H., *J. Phys. Chem. B*, **2006**, *110*, 14155.
- (263) Nakamura, T.; Ikemoto, J.; Fujitsuka, M.; Araki, Y.; Ito, O.; Takimiya, K.; Aso, Y.; Otsubo, T., *J. Phys. Chem. B*, **2005**, *109*, 14365.
- (264) Cho, Y. J.; Ahn, T. K.; Song, H.; Kim, K. S.; Lee, C. Y.; Seo, W. S.; Lee, K.; Kim, S. K.; Kim, D.; Park, J. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 2380.
- (265) Tome, A. C.; Enes, R. F.; Tome, J. P. C.; Rocha, J.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Elguero, J., *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 11141.
- (266) Sessler, J. L.; Jayawickramarajah, J.; Gouloumis, A.; Torres, T.; Guldi, D. M.; Maldonado, S.; Stevenson, K. J., *Chem. Commun.*, **2005**, 1892.
- (267) El-Khouly, M. E.; Ito, O.; Smith, P. M.; D'Souza, F., *J. Photochem. Photobiol., C*, **2004**, *5*, 79.
- (268) Lv, H.; Yang, B.; Jing, J.; Yu, Y.; Zhang, J.; Zhang, J.-L., *Dalton Trans.*, **2012**, *41*, 3116.
- (269) Tome, J. P. C.; Neves, M. G., P. M. S.; Tome, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Soncin, M.; Magaraggia, M.; Ferro, S.; Jori, G., *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 6649.